

**DVE DESETLETJI FUNKCIONALNO-
MORFOLOŠKIH RAZISKAV PRI MOČERILU
(*PROTEUS ANGUINUS*, AMPHIBIA, CAUDATA)**

TWO DECADES OF FUNCTIONAL-MORPHO-
LOGICAL STUDIES OF *PROTEUS ANGUINUS*
(AMPHIBIA, CAUDATA)

BORIS BULOG

Izvleček

UDK 597.9 (497.12)

Bulog Boris: Dve desetletji funkcionalno-morfoloških raziskav pri močerilu (*Proteus anguinus*, Amphibia, Caudata)

Naša endemična repata jamska dvoživka, *Proteus anguinus*, ohranja številne neotenične značilnosti skozi celo življenje in kaže tudi nekaj splošnih troglomorfnih karakteristik. Fiziološke in funkcionalno-morfološke raziskave tega endemita potekajo vsaj dvajset let na Oddelku za biologijo, BF, Univerza v Ljubljani. Močeril je očitno odporen na nizke koncentracije kisika v vodi (1,4 - 0,3 mg/l). Ugotovljena je bila tudi najnižja koncentracija kisika v njegovem naravnem okolju (1,04 mg O₂/l). Izmerjene so koncentracije kovin v vodah in sedimentih Pivke in Raka, ki tečeta skozi Planinsko jamo. Predhodne analize kažejo, da jetra močerila kopičijo največje količine kovin in jih lahko smatramo kot tarčni organ. Koža nepigmentirane vrste in pigmentirane podvrste ohranja mnoge larvalne značilnosti. V naših raziskavah je povdarek na analizi mehanoreceptorne in elektromotorne oktavolateralne sistema ter fotoreceptorne čutilne organe. Posebna adaptivna vrednost notranjega ušesa se kaže v zelo zapleteni orientaciji čutilnih celic enega od senzoričnih epitelov. Elektromotorne ampularne organi so odkriti in raziskovani na koži glave. Oči temne podvrste močerila so mnogo bolj diferencirane v primerjavi z nepigmentiranimi osebki. Prehrana močerila se sezonsko spreminja. Prevladujejo jamski rakci in polži, poleti pa je hrana dopolnjena še z žuželkami. Na osnovi naših opažanj lahko ugotavljamo, da močeril lahko preživi brez hranjenja več kot deset let.

Abstract

UDK 597.9 (497.12)

Bulog Boris: Two decades of functional-morphological studies of *Proteus anguinus* (Amphibia, Caudata)

Our endemic cave salamander, *Proteus anguinus*, preserves numerous neotenic characteristics throughout its life and also reveals some general troglomorphic peculiarities. The physiological and functional morphological investigations of this endemite have been going on for at least twenty years at the Department of Biology, BF, University of Ljubljana. *Proteus* is evidently resistant to low levels of oxygen in water (1,4 - 0,3 mg/l). The lowest oxygen value in the water of its habitat, 1.04 mg O₂/l, was also confirmed. Metal levels were measured in the rivers Pivka and Rak, both running through the Planina Cave, and their sediments. Introductory analyses indicate that the liver of *Proteus* accumulates the largest quantities of metals and may be considered as the target organ. The skin of pigmentless species and pigmented subspecies maintains many larval characteristics. In our studies we emphasize the mechanoreceptive and electrosensitive octavolateral system, and the photoreceptive sensory organs. The special adaptive value of the inner ear is suggested by the very complex orientation of the hair cells in one of the sensory epithelia. The electrosensitive ampullary organs have been found and analyzed in the skin covering the head. The eyes of the dark subspecies are much more differentiated as compared to those of the pigmentless specimens. The nutrition of *Proteus* varies with the season. The main organisms eaten were crustaceans and snails. In the summer the diet was supplemented by insects. Based on our observations, *Proteus* is able to survive for over ten years without feeding.

Naslov - Address

Boris Bulog, prof. dr.

Oddelek za biologijo, Biotehniška fakulteta, Univerza v Ljubljani,

Večna pot 111, p.p. 95

SI-61111 Ljubljana, Slovenija

UVOD

Močeril ali človeška ribica, je edini jamski vretenčar v Evropi in hkrati najpomembnejša biološka znamenitost podzemeljskih voda Dinarskega Krasa. Za predstavnike družine Proteidae, v katero sodi tudi naš endemit je značilno, da nimajo maksile, periotični kanal notranjega ušesa pa poteka horizontalno. Ta neotenična dvoživka ohranja celo življenje nekatere larvalne znake v odraslem stanju. Mednje sodijo predvsem zunanje škrge, škržne reže, koža z mnogimi larvalnimi značilnostmi in visceralni skeletni elementi. *Neoteniya* je fenomen, pri katerem osebkci dosežejo reproduktivno zrelost in ohranjajo zunanje larvalne znake. Po vsej verjetnosti pride do upočasnjene somatskega razvoja pri relativno normalni hitrosti dozorevanja spolnih organov. Pri obligatnih neoteni (*Proteus*, *Necturus* in *Amphiuma*) je očitno razlog za ireverzibilno neotenijo v neobčutljivosti tkiv na tieoidne hormone. Eksperimenti z fakultativnimi neoteni (npr.: *Ambystoma*) kažejo, da tieoidni hormoni (T_3 in T_4) inducirajo metamorfozo (Duellman in Trueb 1986). Neoteniya se pri repatih dvoživkah pojavlja v relativno stabilnem vodnem okolju z zadostnimi viri hrane, brez predatorjev. Takšno vodno okolje pa je običajno obdano s habitatami v katerih so relativno neugodni pogoji (npr.: prisotnost predatorjev, pomanjkanje hrane, neugodne klimatske razmere ...).

Močeril kaže tudi nekatere splošne *troglomorfne karakteristike*: specializacije čutilnih organov, podaljšanje nekaterih telesnih delov, predvsem nesorazmerna rast glave v dolžino (Istenič in Bulog 1976), kar je značilno tudi za ameriške urodele z močno izraženim jamskim načinom življenja (Clerque-Gazeau 1974). Med te karakteristike vsekakor lahko prištevamo tudi reducirane oči, depigmentacijo kože, upočasnen metabolizem, odpornost proti stradanju, morda tudi reducirano intraspeciesno agresijo (Christansen 1992).

Na Oddelku za biologijo Biotehniške fakultete v Ljubljani potekajo raziskave na močerilu že okoli 25 let. Sprva se je del raziskav usmeril v *proučevanje adaptacij močerila na njegovo podzemsko vodno okolje* (Istenič 1971, 1979, 1986, Sojar 1980). S tem namenom smo proučevali hidrokemijske pogoje v naravnem okolju močerila v povezavi z raziskavami porabe kisika živali v različnih pogojih okolja. *Vprašanje čutilne sposobnosti slepe jamske dvoživke* je usmerilo del raziskav v proučevanje čutilnih organov pri močerilu in na analizo kože s kožnimi čutilnimi organi (Istenič in Bulog 1976, 1979, 1984, Bulog 1987, 1988, 1989a, 1989b, 1990, 1993 1994, Kos in Bulog 1993, Bulog in Bizjak-Mali 1994). Stekle pa so tudi *raziskave na prebavnem traktu in metabolizmu pri proteju* (Mali 1992). V zadnjem času pa se raziskave širijo tudi na področje *proučevanja nalaganja težkih kovin v tkivih*

proteja, in na *uvajanje tkivnih in celičnih kultur* pri tej živali (Cijan 1994, Cijan in Bulog v pripravi).

RAZISKAVE ADAPTACIJ MOČERILA NA PODZEMSKI VODNI HABITAT

V letu 1969 je bil odkrit v Putickovem jezeru Planinske jame 80 % deficit kisika (tudi do 1 mg/l vode) v vseh nivojih jezera od dna do površine in sicer v periodah izredno nizkega vodostaja v Planinski jami (Istenič 1971, 1979). Te meritve so bile petkrat potrjene in zadnje meritve hipoksičnih pogojev v letu 1985 so bile dopolnjene z analizo atmosfere nad jezerom (11% O₂ in 0,1% CO₂). Razlago za redno pojavljanje nizke koncentracije kisika na tej lokaliteti je avtorica iskala v visoki stopnji mineralizacijskih procesov v vodi s tega področja (Istenič 1986). V jezeru se namreč kopičijo sedimenti v terminalni fazi mineralizacije. Z oksidacijo anorganskih soli naj bi se povečevala poraba kisika. Jamska ilovica naj bi specifično delovala kot ionski izmenjevalec. Na tej lokaciji smo večkrat opazili tudi močerile.

V povezavi s temi ugotovitvami pa je bila proučevana predvsem odvisnost človeške ribice od vsebnosti kisika v vodi. Žival diha s škrgami in tudi s kožo, če pa je vsebnost kisika v vodi nizka se poveča sicer razmeroma majhna dihalna vloga pljuč. V normalno oksigenirani vodi, pri 10° C prispevajo pljuča manj kot 5 % celotne preskrbe s kisikom. Ugotovljeno je bilo, da v primeru pomanjkanja kisika v vodi živali hodijo na površino po zrak. Kritična točka za močerila, pri temperaturi vode 10° C, je pri koncentraciji 2,9 mg kisika / liter vode (to je koncentracija kisika, pri kateri se najhitreje spremeni frekvenca inspiracij). Pri tem se močno zviša frekvenca respiracijskih gibov. Poskusi so pokazali, da pri več kot 64 odstotni nasičenosti vode s kisikom močerili ne uporabljajo pljuč kot akcesorno dihalo (Sojar 1980).

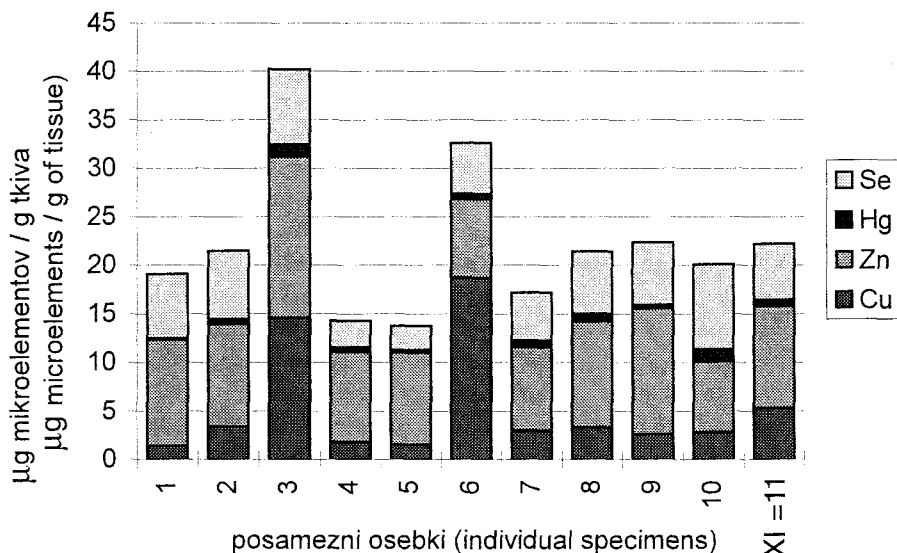
Po vsej verjetnosti pa v primeru zadrževanja močerila v kopenskem delu njegovega naravnega okolja v veliki meri uporablja kožo za izmenjavo dihalnih plinov v zraku. Očitno je močeril proti pomanjkanju kisika v vodi zelo odporen in preživi tudi v vodi, ki vsebuje komaj 1 mg O₂/l vode. Običajna vsebnost kisika v jamski vodi je 8 - 11 mg O₂/l. Glede na to, da je najdeno področje v njegovem naravnem okolju, kjer se koncentracija kisika v vodi zniža na vrednost blizu 1 mg O₂ / l vode in upoštevajoč laboratorijske poizkuse lahko predvidevamo, da je močeril dobro prilagojen na znižanje koncentracije O₂ v vodi (Sojar 1980).

V okviru teh raziskav poteka tudi proučevanje *kopičenja mikroelementov v naravnem okolju in tkivih močerila* (Dermelj et al. 1984, Cijan 1994). Vsebnost mikroelementov je bila merjena v podzemskih tokovih rek Pivka in Rak. in v rečnih sedimentih. Analizirana je bila vsebnost Fe, As, Cu, Sb, Zn, Hg, v rečnih usedlinah pa še Mn, Cd, Co,. Pri tem smo uporabili različne analitične metode (atomska absorpcijska spektrometrija hladnih par, nevtronska aktivacijska analiza, X-žarkovna fluorescenca). Rezultati analiz vsebnosti kovin v vodah iz Planinske jame kažejo, da so njihovi koncentracijski nivoji znatno pod maksimalnimi dovoljenimi koncentracijami (MDK - Pristov 1992). Izmerjene vrednosti v Pivki in Raku so dokaj izenačene, kljub temu, da ju napaja voda iz različnega hidrografskega zaledja. Najnovejše primerjalne analize so pokazale, da bistvenih razlik v vsebnosti kovin

med letom 1978 in 1993 ni (Cijan 1994, Cijan in Bulog v pripravi). Edina opazna razlika je v trendu upadanja koncentracij antimona, bakra in cinka. Upoštevajoč to, da gre le za enkratne meritve, lahko le domnevamo, da vode v Planinski jami niso obremenjene s kovinami. Poudariti moramo, da gre le za opis trenutnega stanja obremenjenosti voda s kovinami. Rečne usedline kopičijo precejšnje količine mikroelementov zaradi adsorpcije, hidrolize,... in se z desorbcijo ponovno sproščajo v vodo. Primerjava koncentracij kovin v jamskih rečnih usedlinah z naravnimi vrednostmi le teh (po Turekian in Wedepohl 1961) kaže, da se analizirane kovine kopičijo v rečnih usedlinah. Kopičenje kovin v rečnih usedlinah iz Planinske jame je sicer precejšnje, vendar pa vsebnosti kovin niso tako visoke, da bi lahko govorili o močnem onesnaženju. Za realno sliko vsebnosti kovin v vodi in usedlinah bo potrebno redno odvzemanje vzorcev skozi daljši čas.

V dosedanjih študijah je določena tudi vsebnost bakra, cinka, arzena, selena, antimona, kobalta, kadmija in živega srebra v ledvicah, jetrih, koži in mišicah močerila. Vsebnost teh mikroelementov je bila merjena z nevtronsko aktivacijsko analizo. Preliminarni rezultati kažejo, da jetra kopičijo največjo količino mikroelementov (Histogram 1). Privzem kovin v telo močerila bi lahko potekal na več načinov: 1/ z zaužitjem plena, usedline ali vode, 2/ z absorpcijo direktno iz vodnega okolja (koža, škrge), 3/ z absorpcijo iz zraka (pljuča). Privzem živega srebra pri dvoživkah naj bi potekal s konzumacijo hrane, preko kože in z zračno absorpcijo (Byrne et al. 1975). Upoštevajoč način prehranjevanja močerila, ki "rije"

Histogram 1. Mikroelementi v jetrih proteja. (Microelements in the liver of *Proteus*)



s sprednjim delom glave po dnu, ko išče svoj plen, bi bila velika verjetnost, da močeril sprejema precejšen del mikroelementov nakopičenih v rečnih sedimentih. V nadaljnjih raziskavah nameravamo vključiti redno kontrolo kopičenja kovin v tkivih in naravnem okolju močerila, proučevanje možnih poti privzema v telo močerila, transporta, porazdelitve, biotransformacij in izločanja mikroelementov.

RAZISKAVE KOŽE

Koža oz. integument ima pri močerilu ohranjene mnoge larvalne značilnosti. Med temi moramo vsekakor omeniti Leydigove žlezne celice in mikrovilarno zgradbo vrhnje plasti epidermisa, ki ima mukozno naravo. Dobro so diferencirani čutilni organi oktavolateralnega sistema (mehanoreceptorni nevromasti in elektoreceptorni ampularni organi) (Istenič in Bulog 1984, Bulog 1988, Bulog in Bizjak - Mali v pripravi). V koži ni pterinov, to je barvil, ki so značilna za ostale dvoživke, prisotne pa so relativno visoke koncentracije riboflavina (330 - 340 µg/g suhe teže), ki naj bi bil osnova za rumenkasto osnovno obarvanost kože (Istenič in Ziegler 1974). Zadnje raziskave integumenta vključujejo kožo nepigmentiranega močerila in kožo temno pigmentiranih primerkov (Kos 1992, Kos in Bulog 1993), ki so bili najdeni v Beli krajini pri izviru Dobličice (1986) in nekoliko kasneje pri bližnjem Ješevniku in opisani kot podvrsta *Proteus anguinus parkelj* (Sket 1993, Sket in Arntzen 1994). Obe obliki močerila imata v koži zvezdaste pigmentne celice nameščene v zgornjem delu usnjice. Prve ultrastrukturne raziskave nakazujejo večjo gostoto odstavkov teh pigmentnih celic v usnjici kože pri pigmentiranem osebku, medtem ko je teh odstavkov manj v koži svetlih osebku. Domnevamo lahko, da nastopa manjše število pigmentnih celic v koži pri svetlem osebku. Pri nepigmentiranih živalih postane koža, ki je dalj časa izpostavljena naravni ali umetni svetlobi temneje pigmentirana, kar dokazuje da sinteza melanina oz. njemu podobnega pigmenta v pigmentnih celicah ni povsem zavrta. Preliminarne ultrastrukturne analize kože obeh oblik močerila nakazujejo nekoliko več značilnosti kože metamorfoziranih reparih dvoživk pri temnih osebkih (Kos in Bulog 1993).

Koža na dorzalni strani glave, anteriorno od oči je pri temno pigmentirani podvrsti slabše pigmentirana. V tem predelu je v strehi medmožgan (diencephalon) razvito pinealno telo. Kaže, da bi pri močerilu ta ekstraoptični fotoreceptorni organ lahko imel pomembno vlogo v življenju teh živali.

Kompleks pinealnega organa in pinealnega telesa (pri žabah) in pinealno telo (pri repatih dvoživkah) naj bi bili pomembni v adaptaciji pigmentiranosti, sinhronizaciji cirkadiane lokomotorne ritmike in v orientaciji po soncu (Duellman in Trueb 1986). Fotoreceptorne celice v pinealnem telesu so inhibirane s svetlobo in stimulirane v odsotnosti svetlobe. Stimulacija receptorjev povzroči sproščanje hormona melatonina, ki deluje na dermalne melanofores. Povzroči agregacijo melanosomov v melanoforah in na ta način bleđenje kože v temnem okolju.

RAZISKAVE ČUTILNIH ORGANOV

Vprašanje čutilne sposobnosti močerila je usmerilo del naših raziskav v študijo čutilnih organov, pri katerih je bilo pričakovati ustrezne dražljaje v njegovem življenjskem okolju (Istenič in Bulog 1976, 1979, 1984, Bulog 1986, 1987, 1988, 1989a, 1989b, 1990, 1993, 1994). Pozornost tujih raziskovalcev (predvsem francoskih) je bila usmerjena sprva v proučevanje pokrnelih oči, poznavanje drugih čutilnih organov pa je bilo v veliki meri zanemarjeno. Ostalo je namreč na nivoju klasičnih morfoloških raziskav iz prejšnjega stoletja.

OKTAVOLATERALNI SISTEM

V ta okvir sodi oktavolateralni sistem, ki vključuje tako bočno linijo z nevromasti in ampularnimi organi kot tudi notranje uho. Pomembno vlogo pa igrajo tudi kemoreceptorni okušalni brstiči in vohalni organ. Naša obnovljena anatomska analiza notranjega ušesa predstavlja osnovo za nadaljnje ultrastrukturno proučevanje otičnega labirinta, ki že nekaj let poteka v sklopu raziskovalnih projektov v okviru Skupine za primerjalno anatomijo in embriologijo vretenčarjev (Istenič in Bulog 1976). Svetlobnomikroskopske analize krovnih struktur v otičnem labirintu pri močerilu so prvič opozorile na prisotnost dveh kristalizacijskih oblik kalcijevega karbonata (kristali aragonita v sakulu in kristali kalcita v utrikulu) v notranjem ušesu dvoživk. Na podlagi rezultatov svetlobnomikroskopske analize lahko primerjamo morfološke značilnosti notranjega ušesa močerila z ustreznimi karakteristikami pri drugih repatih dvoživkah. Na osnovi enajstih karakteristik otičnega in periotičnega labirinta je bil ugotovljen trend k redukciji posameznih struktur zaradi pedomorfoze (neotenije) kot primitivne karakteristike, na drugi strani pa večja izdelanost senzoričnega sistema kot izpeljana karakteristika. V okviru neoteničnih skupin se značilnosti protejevega ušesa v največji meri ujemajo z značilnostmi pri pisanem nekturu (*Necturus maculosus*). Svetlobnomikroskopska analiza otičnega labirinta sicer podpira sistematsko uvrstitev proteja in njegovega površinskega ameriškega sorodnika nektura v skupno družino Proteidae, ne more pa prispevati k poznavanju prilagojenosti notranjega ušesa v povezavi s troglobiontskim načinom življenja. Specifičnosti v diferenciranosti posameznih čutilnih epitelov v notranjem ušesu močerila, ki naseljuje podzemski vodni habitat, v primerjavi z diferenciranostjo pri površinskih predstavnikih, lahko pokažejo kakšna je adaptiranost takega senzoričnega sistema na posebnosti podzemskega vodnega okolja. Nadaljnje raziskave smo zato poglobljali na ultrastrukturni nivo. Elektronskomikroskopska analiza je tako omogočila tudi funkcionalno-morfološki pristop v proučevanju morfogeneze otokonialnih kristalnih mas z ultrastrukturno analizo predstopenj v procesu nastajanja oz. obnavljanja otokonijev in morfogenezo tvorbe in degeneracije čutilnih celic senzoričnih epitelov v notranjem ušesu (Bulog 1989a, 1989b, 1993, 1994). Na osnovi SEM (vrstična elektronska mikroskopija) in TEM (presečna elektronska mikroskopija) analize posameznih čutilnih epitelov so bili proučevani posamezni morfogenetski stadiji v procesu nastajanja novih čutilnih celic. Procese morfogeneze smo spremljali z elektronskomikroskopsko analizo čutilnega epitela sakularne makule v notranjem ušesu pri mlajših subadultnih stadijih in pri adultnih osebkih. Dokazana

je bila *permanentna tvorba novih čutilnih celic* *tekom življenja živali*, posebno na periferiji omenjenega čutilnega epitela (Bulog 1989b). V čutilnih epitelih notranjega ušesa pri močerilu je bilo ugotovljenih *vsaj pet različnih tipov čutilnih celic*, ki se ločijo po apikalnem ciliarnem delu. Na osnovi pestre morfologije ciliarnih delov čutilnih celic bi lahko predpostavili, da so nekateri čutilni epiteli v notranjem ušesu pri močerilu tonotopično organizirani in na ta način sposobni frekvenčne diskriminacije na periferiji. Tonotopična organiziranost pomeni sposobnost sekundarnih čutilnih celic v notranjem ušesu, da delujejo kot mehanski filtri z različno "uglašenostjo" na osnovi različne dolžine in togosti ciliarnih delov čutnic (Bulog 1989b, 1990). Na osnovi mnogo bolj zapletene funkcionalno-morfološke orientiranosti čutilnih celic v sakularni makuli močerala v primerjavi z drugimi urodeli lahko predpostavimo vlogo tega čutilnega epitela v zaznavanju smeri vira zvočnega valovanja. Pri tem moramo upoštevati tesno funkcionalno-morfološko povezavo sakularne makule z obsežno otokonialno maso v sakulu notranjega ušesa pri močerilu. Ta značilnost nakazuje specifično adaptiranost notranjega ušesa jamske dvoživke (Bulog 1989b, Bulog 1990).

Elektronskomikroskopske raziskave so omogočile ultrastrukturno analizo otokonialnih membran in natančno kristalografsko analizo otokonialnih mas nad posameznimi makulami in potrdile domnevo o prisotnosti dveh različnih kristalizacijskih oblik kalcijevega karbonata (Bulog 1989a, Bulog in Rode 1989). Relativno mala masa nad utrikularno makulo ima diferencirane *velike kalcitne kristale*, podobne kristalom v notranjem ušesu višjih vretenčarjev. Po drugi strani pa sta ogromna otokonialna masa sakularne makule in manjša otokonialna masa lagenarne makule grajeni iz *mного manjših aragonitnih kristalov* značilnih za nižje vretenčarje. V sakulusu in lageni notranjega ušesa smo uspeli analizirati organske globularne predstopnje za aragonitne kristale. Najmanjše kroglaste predstopnje so znotraj celic posameznega senzoričnega epitela. Te globularne predstopnje z gladko površino prodirajo skozi apikalne dele opornih celic celic čutilnega epitela in se na prehodu skozi mukopolisaharidno in glikoproteinsko otokonialno membrano pretvarjajo v večje kroglaste predstopnje s spužvasto površino. Te predstopnje imajo verjetno tudi več kalcija in se ob prodiranju skozi apikalno površino otokonialne membrane pretvarjajo v končno formirane kristale aragonita na spodnji strani otokonialne mase (Bulog 1989a, 1994). Te analize so pokazale, da je ohranjena potencia tvorbe novih aragonitnih kristalov tekom življenja živali. Zadnje ultrastrukturne analize čutilnih epitelov krist v polkrožnih kanalih notranjega ušesa pri močerilu so pokazale prisotnost nekaterih čutilnih celic v različnih fazah degeneracije, kar je podkrepila tudi prisotnost specifičnih organelov podobnih lizosomom v teh čutilnih celicah in jasno opazno sproščanje celičnega materiala (apoptoza) skozi apikalno površino celic (Bulog 1993, 1994).

Slušne sposobnosti urodelov so ostale relativno slabo raziskane. Za razliko od anurov urodeli nimajo votline srednjega ušesa in ne timpanalne membrane. Kljub temu, da pri urodelih ni razvito tipično uho za izenačevanje impedance, so eksperimentalne raziskave pokazale, da je njihovo notranje uho občutljivo na zvok večjih intenzitet, ki se širi po zraku, in vibracije s podlage (Hetherington in Lombard 1982). Pod vodo pa se razmere spremenijo. Raziskave pri nekaterih drugih dvoživkah so pokazale, da votlina srednjega ušesa, ustna votlina in verjetno tudi pljuča lahko pod vodo služijo kot pretvorniki zvočnega tlaka (Hetherington in Lombard 1983). Pri analizi histoloških rezin v predelu notranjega ušesa

smo pri močerilu ugotovili tesno anatomsko povezavo med stropom ustne votline in ovalnim oknom. Preko te povezave bi se lahko zvočno valovanje iz vodnega okolja močerila prenašalo skozi obsežno ustno votlino do notranjega ušesa.

Predpostavimo lahko, da je notranje uho pri močerilu pomemben mehanoreceptorni čutilni organ, ki živali omogoča orientacijo v specifičnem podzemnem vodnem habitatu. Upoštevajoč fiziološko dokumentacijo o možnostih registracije zvočnega pritiska pri urodelih lahko predvidevamo, da močeril zaznava določeno zvočno valovanje, v območju nižjih frekvenc. Morda notranje uho lahko služi tudi za medsebojno zvočno komunikacijo med sovrstniki upoštevajoč tudi sicer nepreverjene podatke nekaterih starejših avtorjev, da se močeril lahko oglašja s šibkimi cvilečimi zvoki.

Sistem bočne linije spada v oktavolateralni sistem in zajema *mehanoreceptorne nevromaste in elektromotorne ampularne organe*. Svetlobnomikroskopske raziskave so omogočile histološko analizo nevromastov v vrhnjici kože na glavi in na bočnem delu vrhnjice kože na trupu. Na glavi pa smo odkrili nov tip čutilnih organov, ki so jih klasični morfologi pri močerilu opredelili kot razvijajoče se nevromaste (Istenič in Bulog 1984). S poglobljeno ultrastrukturno analizo teh kijasto oblikovanih čutilnih elementov smo podprli domnevo, da gre za elektromotorne ampularne organe. S serijskimi prečnimi ultrastrukturnimi rezinami smo uspeli izdelati tridimenzionalno rekonstrukcijo tega na novo odkritega čutilnega sistema, ki smo ga podrobno analizirali (Istenič in Bulog 1984). Ugotovili smo tri velikostne razrede mehanoreceptornih nevromastov pri močerilu, kar si razlagamo s tvorbo sekundarnih nevromastov znotraj obstoječih garnitur čutilnih elementov (Bulog in Bizjak-Mali v pripravi).

Sklepajoč po dosedanjih fizioloških raziskavah mehanoreceptornih nevromastov pri ribah so ti čutilni elementi občutljivi na bližnje oscilacije in lokalne premike v vodi, oddaljenih virov zvočnega valovanja pa ne zaznavajo (Schuijff in Buwalda 1980, Sand 1981). Upoštevajoč te ugotovitve, lahko zaključimo, da se oba mehanoreceptorna sistema (notranje uho in nevromasti bočne linije) uspešno dopolnjujeta v zaznavnju različnih kvalitet zvočnega valovanja.

Ampularni organi zaznavajo šibka električna polja animaličnega in neanimaličnega izvora v okolju in posredujejo živali informacije za komunikacijo in orientacijo, istočasno pa verjetno omogočajo močerilu, da zazna svoj plen. Ampularne organe so našli skoraj izključno pri vodnih vretenčarjih s šibkim vidom in sama elektromotorivnost se praviloma povezuje z življenjem v pogojih slabe vidljivosti (Zakon 1988). Upoštevajoč redukcijo oči v odraslem stanju in specifični podzemski vodni habitat, močeril lahko s pridom uporablja svoje elektromotorne čutilne elemente.

V potrditev teh naših domnev so na osnovi etoloških in fizioloških raziskav nekaj let kasneje nemški raziskovalci eksperimentalno dokazali, da močeril zaznava direktna tokovna polja in njihovo polarost. Reagira na tokovno gostoto 0,03 mA/cm (Roth in Schlegel 1988, 1994). Z elektrofiziološkimi odvajanjmi od aferentnih živčnih končičev so ugotovili, da ampiularni elektromotorji pri močerilu odgovarjajo s porastom hitrosti razelektritev pod vplivom katodnih tokov in znižanju le te pod vplivom anodnih tokov (prag: do 0,1 mV/cm)

OKUŠALNI BRSTIČI

Analizirali smo tudi strukturne diferenciacije ustno žrelne sluznice pri močerilu s pomočjo svetlobne in elektronske mikroskopije ter ugotovitve vključili v funkcionalno-morfološko obravnavo (Istenič in Bulog 1979). Na serijskih rezinah glave smo s pomočjo svetlobne mikroskopije ugotavljali razsežnost ustno-žrelne sluznice, njeno zgradbo in histokemijo. Analizirali smo *okušalne brstiče*, ki nimajo pore in segajo z receptornimi deli na površino ustno-žrelne sluznice. Osnovna zgradba brstičev v ustni in žrelni sluznici pri močerilu kaže ustrezno zgradbo okušalnim brstičem, ki so bili opisani pri nekturu (Farbman in Yonkers 1971). Glede na določene ultrastrukturne karakteristike so bile ugotovljene določene razlike med posameznimi brstiči v ustni sluznici v primerjavi s tistimi ob vhodih v škržne reže. Specifični brstiči ob vходу v škržne reže morda služijo lahko preizkušanju kemizma vode in s tem v deoksigenirani vodi posredujejo ustrezno senzorično informacijo, ki sproži zračno dihanje. Močeril plena ne melje ali razkosava ampak požira celega. Plen se zadržuje v ustni votlini in prihaja v tesen kontakt z okušalnimi brstiči.

OKO

• Odkritje črne podvrste močerila (Istenič in Bulog 1986, Istenič 1987, Sket 1993, Sket in Arntzen 1994) je omogočilo tudi prve morfološke analize oči, ki so že na prvi pogled bolj diferencirane kot pri odraslih osebkih nepigmentirane vrste (Bulog 1992). Metrična analiza serijskih semitenkih rezin je omogočila določitev maksimalnega premera očesnega zrkla (1300 μm) pri črnem osebku (subadultna samica s telesno dolžino 187 mm). Premer bolj ali manj okrogle leče znaša okoli 200 μm . Opravili smo tudi preliminarno analizo posameznih delov mrežnice in pozornost usmerili predvsem na fotoreceptorne čutilne celice in na sinaptične povezave med posameznimi sloji mrežnice.

Francoski raziskovalec Durand (1971) je v svoji obsežni raziskavi proučeval zgodnji razvoj močerila in morfogenezo ter končno degeneracijo očesa. V subadultni fazi (osebki dolžine 100-220 mm) imajo "beli" osebki očesno zrklo s premerom 300 - 520 μm . Premer leče pa se zmanjšuje od 105 μm do 0 μm oz. leča popolnoma zgine. Izležena larva ima maksimalno diferencirano oko in v obdobju larvalnega razvoja se oko le nekoliko poveča brez nadaljnje diferenciacije. V nadaljnjem regresivnem razvoju očesa postane suprapoptični epidermis debelejši. Oko zadrži splošen embrionalni videz tudi po juvenilni fazi razvoja, štiri mesece po izleženju. V tem času se oko pomika vedno globlje v tkiva na glavi. Pomanjkanje pigmentacije in očesna degeneracija se smatrata kot dve bistveni karakteristiki adaptacije živali na podzemskie biotope. V bistvu se pigmentacija pri močerilu pojavlja na začetku razvoja v odsotnosti kakršnekoli svetlobne stimulacije kot ugotavljajo francoski raziskovalci (Durand 1976). Mlade ličinke, osvetljevane z lučjo imajo melanofore in rumene kromatofore. Pigmentacija je očitno kontrolirana s fiziološko regulacijo odvisno od prisotnosti svetlobe ali teme v njenem okolju. Očitno ima pomanjkanje pigmenta v koži pri močerilu adaptivni karakter in ne degenerativne značilnosti. Francoski raziskovalci so z eksperimenti osvetljevanja z naravno in umetno svetlobo ugotavljali morebitno regeneracijo

oči. Rezultati so pokazali, da pod vplivom večletnega osvetljevanja živali ni prišlo do preprečitve degeneracije vključno z ugrezanjem očesa v orbito, izginjanjem leče in zadebelitvijo dermalne roženice (Durand 1976). Nekateri avtorji degeneracijo očesa pri močerilu razlagajo kot sekundarno adaptacijo na podzemsko okolje, drugi jo nasprotno smatrajo kot neotenični razvojni karakter ali kot zgodnejšo preadaptacijo na jamski način življenja (Hawes 1945). Po eni hipotezi naj bi bila očesna redukcija pri močerilu odvisna od neotenične preadaptacije, sekundarno ojačena z jamskim načinom življenja. Na osnovi ontogenije močerila francoski raziskovalci sklepajo, da redukcija očesa ni odvisna od omenjenih faktorjev, vsi anatomske in eksperimentalni dokazi pa potrjujejo, da so determinirajoči faktorji regresije genetski (Durand 1976). Rudimentarne oči pri močerilu in morda tudi pri drugih jamskih vretenčarjih naj bi bile posledica specifičnega razvoja in so rezultat motnje normalnih ontogenetskih procesov in celičnega metabolizma.

RAZISKAVE PREBAVNEGA TRAKTA IN PREHRANE

Raziskave prehrane pri naši jamski dvoživki so potrdile predatorsko naravo ter dale podatke o vodilnih prehranjevalnih organizmih. Ugotovljeno je bilo sezonsko kolebanje prehrane. Vodilni prehranjevalni organizmi v jesenskem času so raki in polži, poletna prehrana pa je bila dopolnjena z žuželkami. Sezonsko se pojavljajo tudi nematodi, ki so bili najdeni v srednjem delu prebavne cevi. Masovno se pojavljajo v zgodnjem poletnem času, pozno poleti le posamično, kasneje v jeseni jih ni bilo zaslediti. Pojav nematodov v lumnu prebavne cevi povezujemo z značilnimi kalcifikacijami v pankreasu (ciste s kalcificirano steno). Te kalcifikacije imajo morda značaj aktivnih skladišč za kalcij. Problematika homeostaze in skladiščenja kalcija je pri neoteničnih urodelih slabo poznana. Potrebno bo proučiti vlogo sezonskega pojavljanja kalcifikacij v predelu srednjega črevesa močerila ter izkoriščanje naloženih soli v vezivnih cistah za vzdrževanje mineralne homeostaze.

Znano je, da lahko proteji izredno dolgo stradajo (Briegleb 1962). Na splošno pri dvoživkah stradanje ni redek pojav in domneva se, da nekatere larve dvoživk lahko preživijo mesece brez hrane. V tem času naj bi se hranile s pomočjo bakterij, ki se naselijo v mukusu vrhnjice kože. V literaturi se navaja sposobnost preživetja močerila v laboratorijskih pogojih brez hranjenja dve do osem let (Vandel 1965). Pri kontroliranih poskusih stradanja v našem laboratoriju je bila ugotovljena velika sposobnost stradanja tudi do 10 let. V naših raziskavah proučujemo vplive stradanja na morfologijo in histokemijo stene prebavnega trakta (Mali 1992). Študije pa bomo poglobili tudi na ultrastrukturni nivo s citokemijskimi analizami z različnimi metodami za EM analizo glikoproteinov.

Prof.dr. Lili Istenič je kot ena največjih avtoritet v raziskavah močerila postavila temelje za funkcionalno-morfološke raziskave naše endemične jamske dvoživke in pričujoči prispevek je posvečen njenemu dolgoletnemu plodnemu raziskovalnemu delu.

SUMMARY

Proteus anguinus is the single species of the European cave salamander and the most famous trogllobiont in the underground waters of the Dinaric Karst. It maintains neotenic characteristics throughout its life, for example, three pairs of outer gills, two pairs of gill slits, an integument with numerous larval characteristics, and typical visceral skeletal elements. *Proteus* also reveals some general troglomorphic characteristics: specialization of the sensory organs, elongation of individual body parts, especially the asymmetric growth of the head length, reduced eyes, skin depigmentation, slow metabolism, starvation resistance, expanded life period, and probably also the reduction of its intraspecific aggression.

The study of our endemic cave salamander has continued for at least 25 years at the Biotechnical Faculty, Department of Biology, University of Ljubljana. Part of the researches were focused to studies of *Proteus* adaptations to its underground aqueous habitat. This research included the terminal part of the Rak Branch of the underground river which ends as Lake Putick in the Planina Cave. There we determined 80% oxygen deficit, with a concentration of 2 mg/l. (Istenič 1979, 1986). The lowest oxygen concentration in the water (1,04 mg O₂/l) was also measured. The usual oxygen concentration in the other parts of Rak Branch is approx. 8-10 mg./l. The established hypoxic state is obviously a regular event connected to the high degree of mineralization in the underground water flow, which comes to a stand-still in the lake during low water levels (Istenič 1986). We first verified this by experimentally checking *Proteus* resistance in low levels of oxygen in water (1,4 - 0,3 mg/l). Physiological and biochemical studies demonstrated its ability to survive in these waters (Sojar 1980).

Metal levels were measured in the rivers Pivka and Rak, both streaming through the cave, and their sediments. (Dermelj et al. 1984; Cijan 1994). Contents of the microelements Fe, As, Cu, Sb, Zn, Hg, Mn, Cd, Co were measured with neutron activation analysis, cold vapor atomic absorption spectrometry, atomic fluorescence spectrometry and X-ray fluorescence. The comparison of metals' concentrations in the river sediments (Turekian and Wadepohl 1961) demonstrates their accumulation. The concentrations of metals in the water are far under the permitted maxima determined by Pristov (1992). We also established the contents of copper, zinc, arsenic, selenium antimony, cobalt, cadmium, and mercury in the liver, kidneys, integument, and muscles of *Proteus*. These were measured by neutron activation analysis. Preliminary analyses indicate that the liver of *Proteus* accumulates the largest quantities of metals and may be considered a target organ.

The integument of pigmentless and pigmented specimens of *Proteus* maintains numerous larval characteristics. The microvillous surface differentiation of the mucous surface of the epidermis, composed of nonkeratinized cells, well-developed figures of Eberth, and a dermal basement lamella composed of layers of collagen fibrils, are also characteristics of the integument (Kos 1992, Kos and Bulog 1993). The analyzes of pigments in the skins of the pigmentless specimens manifested a total absence of tetrahydrobiopterin and a marked accumulation of riboflavin, up to 330 to 340 µg/g dry weight (Istenič and Ziegler 1974). The mechanoreceptory and electroreceptory octavolateral system are also differentiated in the epidermal portion of the integument (Istenič and Bulog 1984, Bulog 1988, Bulog and

Bizjak-Mali in prep.). Both forms of *Proteus* have stellate pigment cells with pigment granules in the dermis. The processes of melanophores under the basement lamella are more abundant in the pigmented specimen (Kos, Bulog 1993). The influence of the pineal organ on body pigmentation will be investigated in both the dark and pale forms, as well as the darkening of pigmentless specimens under a light stimulus. The pineal has also a significant role in the circadian rhythms of vertebrates.

A portion of our research has been related to studies of those sensory organs that are presumably important to *Proteus* life in its underground habitat: the inner ear, lateral line neuromasts, and ampullary organs (Istenič and Bulog 1976, 1979, 1984, Bulog 1986, 1987, 1988, 1989a, 1989b, 1990, 1993, 1994). We considered eleven characteristics and found the greatest similarity to lie between the gross morphology of the otic labyrinth of *Proteus* and its relative *Necturus*. Comparative ultrastructural analyses among specimens of different sizes confirms that new sensory cells are generated throughout life, mainly along the periphery of the saccular macula (Bulog 1989a). The inner ear of *Proteus* incorporates at least five types of sensory cells that differ in their apical ciliary part. The tonotopical functional organization of the maculas and amphibian papilla is suggested by the rich differentiation of the apical ciliary part of the sensory cells. Ultrastructural analyses of the P_0 cells support the assumption that these are developing sensory cells (Bulog 1989b). Contrary to this, preliminary ultrastructural analyses of the sensory cells in the cristae, lacking apical ciliary parts, infer that they are presumably degenerating sensory cells (Bulog 1993, 1994). There are two types of calcium carbonate crystals in the otoconial masses within the inner ear. The relatively small otoconial mass of the utricular macula occupies an area no greater than the diameter of the sensory epithelium, and is composed of calcite crystals. The enormous otoconial masses of the saccular macula and the lagenar macula are composed of aragonite crystals (Bulog 1989a). The presence of the globular precursors of the aragonite crystals in adult specimens shows that the formation of new crystals is a permanent, continuing process. The special adaptive value of the otic labyrinth is demonstrated by the complex functional-morphological orientation of the hair cells in the saccular macula (Bulog 1989a, 1990). Maybe *Proteus* uses these cells to orient itself in its underground water habitat, even using far-field sound source localization. The capability of sound pressure registration in *Proteus* is supposed to be accomplished by the tight anatomical junction between the ceiling of the oral cavity and the oval window (Bulog 1989b, 1990).

Beside the studies of inner ear sensory epithelia and mechanoreceptive lateral line system (Bulog 1988), we also determined the electroreceptor ampullary organs by electron microscopic analyses in the skin covering the head (Istenič and Bulog 1984). Later, the electroreceptors were experimentally proven by others: conditioning experiments pointed out that *Proteus* discriminates a back-and-forth moving direct-current field as well as its polarity (Roth and Schlegel 1988, 1994). The general morphology and the cytoarchitecture of the taste buds of *Proteus* is in agreement with the gustatory buds in the tongue of *Necturus* (Farbman and Yonkers 1971). We found differences in *Proteus* of the configuration between the buds in the mouth and those in the pharynx (Istenič and Bulog 1979).

The eyes of matured specimens of *Proteus* are degenerated (Durand 1971): the eyeball undergoes normal development until growth and differentiation come to an end, and degen-

eration sets in. A few years ago, one dark pigmented specimen of *Proteus* was found near Črnomelj (Slovenia), and its morphological description was published (Istenič and Bulog 1986, Istenič 1987, Sket and Arntzen 1994). The dark examples of *Proteus* diverge from the pigmentless specimens of "normal" animals in their eyes as well as numerous other morphological differences. The eyes of the dark subspecies are much more differentiated in comparison with those of pigmentless specimens, as we ascertained in our preliminary light and transmission electron microscopic studies (Bulog 1991, 1992). The metrical analysis of the serial semi-thin sections established the maximal diameter of the bulb parallel to the surface of the skin: 1300 μm . The lens had a diameter of about 200 μm . The outer segments of the receptor cells were composed of regular series of discs but this regularity was not always present in the outer segment of the sensory cells. In the outer plexiform layer we analysed typical synaptic bodies in the form of dense bars by electron microscopy.

The degeneration of the eye in *Proteus* could be a secondary adaptation to the subterranean environment, or a neotenic developmental character, or an earlier pre-adaptation to a cavernicolous life (ref. by Durand 1976).

The nutrition of *Proteus* alternates with the season. The main organisms eaten were crustaceans and snails. In the summer the diet was supplemented by insects. The seasonal alterations were also proven by the discovery of Nematodes in the middle part of the digestive tract. The seasonal appearance of Nematodes may be related to the characteristic calcifications in the pancreas, possibly a calcium reserve. Based on our observations, *Proteus* is able to survive for over ten years without any food. We wonder how starvation influences the morphology and histochemistry of the digestive tract. Its histological, histochemical, and ultrastructural characteristics will be studied in the fed and the starved animals using animals at different periods of food deprivation.

Prof. Dr. Lili Istenič is one of the greatest authority on *Proteus*: she has placed the fundamentals of the functional-morphological studies of our endemic cave salamander. This article is addressed to her long and successful research work.

REFERENCE

- Bulog, B., 1987: Ultrastructural studies of the inner ear sensory epithelia in the cave salamander, *Proteus anguinus* (Urodela, Amphibia). The Eighth European Anatomical Congress, Antwerp, September 6-12, 1987. Acta Anatomica 130/1: 14, Karger, Basel.
- Bulog, B., 1988: Surface ultrastructure of the lateral line sensory receptors in *Proteus anguinus* Laur. (Urodela, Amphibia). Inst. Phys. Conf. Ser. 3/93: 151-152. EUREM 88, York, England.
- Bulog, B., 1989a: Tectorial Structures of the Inner Ear Sensory Epithelia of *Proteus anguinus* (Amphibia, Caudata). Journal of Morphology 201: 59-68.
- Bulog, B., 1989b: Differentiation of the Inner Ear Sensory Epithelia of *Proteus anguinus* (Urodela, Amphibia). Journal of Morphology 202: 325-338.

- Bulog, B., 1990: Čutilni organi oktavolateralnega sistema pri proteju *Proteus anguinus*. (Sensory organs of the octavolateral system of *Proteus anguinus*) (Urodela, Amphibia). I Otični labirint. (I Otic Labyrinth). Biol. Vestn. 38/4: 1-16, Ljubljana.
- Bulog, B., 1993: Ultrastructural analysis of the cristae ampullares of *Proteus anguinus* (Urodela, Amphibia). Proceedings of Multinational Congress on Electron Microscopy: 469-470. Parma, Italy.
- Bulog, B., 1994: Further studies of differentiation and degeneration of the inner ear sensory epithelia of *Proteus anguinus* (Urodela, Amphibia). Abstracts of XI International Symposium of Biospeleology, Abstracts: 43. Florence, Italy.
- Bulog, B. & J. Rode, 1989: SEM analiza globularnih predstopenj za aragonitne kristale v otokonialnih masah notranjega ušesa pri proteju. (SEM analysis of the globular precursors for the aragonite crystals in the otoconial masses of the *Proteus* inner ear.) (*Proteus anguinus*, Urodela, Amphibia). Zbornik YUSEM 89: 50-51. Plitvička jezera.
- Briegleb, W., 1962: Zur Biologie und Ökologie des Grottenolms. Zool. Anz. 166: 87-91.
- Byrne, A.R., Kosta, L. & Stegnar, P., 1975: The occurrence of mercury in Amphibia. Environ. Lett., 8(2): 147-155.
- Christiansen, K., 1992: Biological processes in space and time cave life in the light of modern evolutionary theory. In: Camacho, (Ed.), The Natural History of Biospeleology. Monografias del Museo Nacional de Ciencias Naturales: 454-478.
- Cijan, T., 1994: Mikroelementi v tkivih močerila (Microelements in the tissues of *Proteus*) *Proteus anguinus* Laurenti (Urodela, Amphibia) and in its environment. Graduation thesis.
- Clergue-Gazeau, M., 1974: Urodeles cavernicoles d'Amerique du Nord. Analyse critique des travaux effectues sur les troglonexes. Ann. Speleol., 29: 435-457.
- Dermelj, M., L. Istenič & L. Kosta, 1984: Podatki o nekaterih težkih kovinah v tkivih proteja (Data on some heavy metals in tissues of the europaeen cave salamander) (*Proteus anguinus* Laur.). IX. Yug. Congress of Speleology.
- Duellman, W.E., & L. Trueb, 1986: Biology of Amphibians. McGraw-Hill Book Company, New York.
- Durand, J.P., 1971: Recherches sur l'appareil visuel du Protee, *Proteus anguinus* Laurenti, Urodele Hypogee. Annales de Speleologie 26/3: 497-824.
- Durand, J.P., 1976: Ocular development and involution in the European cave salamander, *Proteus anguinus* Laurenti. Biol. Bull. 151: 450-466.
- Farbman, A. & J. Yonkers, Fine structure of the taste bud in the mudpuppy, *Necturus maculosus*. Am. J. Anat. 131: 353-370.
- Hawes, R.S., 1945: Ont the eyes and reactions to the light of *Proteus anguinus*. Quart. Jour. Micr. Sci. 86: 1- 53.
- Hetherington, T.E. & R.E. Lombard, 1982: Biophysics of underwater hearing in Anuran Amphibians. J. Exp. Biol.: 98: 49-60.
- Hetherington, T.E. & R.E. Lombard, 1983: Mechanics of underwater hearing in larval and adult salamanders *Ambystoma tigrinum*. Comp. Biochem. Physiol. 74A/3: 555-559.
- Istenič, L., 1971: Izgodišče za reševanje ekološke problematike človeške ribice (Ap-

- proach to the solution of the problem of the ecology of *Proteus*) (*Proteus anguinus* Laur.). Biol. vestn. 19: 125-130.
- Istenič, L., 1979: Pomanjkanje kisika v Putickovem jezeru Planinske jame (The oxigen deficit in Putic Lake of Planinska jama.) Acta carsol. 8: 331-352.
- Istenič, L., 1986: Evidence of hypoxic conditions in the habitat of the cave salamander *Proteus anguinus* in the Planinska jama. 9. Congr. Intern. Speleol. : 110-112, Barcelona.
- Istenič, L., 1987: O najdbi črne človeške ribice. (Discovering the black human fish.). *Proteus* 49: 243-244.
- Istenič, L. & B. Bulog, 1976: Anatomske raziskave membranskega labirinta pri močerilu. (Anatomical investigations of membranous labyrinth in *Proteus*) (*Proteus anguinus* Laurenti, Urodela, Amphibia). Razprave SAZU, XIX/2: 21-59, Ljubljana.
- Istenič, L. & B. Bulog, 1979: Strukturne diferenciacije ustno-žrelne sluznice pri močerilu (The structural differentiations of the bucal and pharyngeal mucous membrane of the *Proteus anguinus* Laur). Biol. vestn. 27/1: 1-12, Ljubljana.
- Istenič, L. & B. Bulog, 1984: Some evidence for the ampullary organs in the European cave salamander *Proteus anguinus* (Urodela, Amphibia). Cell and Tissue Research 235: 394-402, Springer-Verlag.
- Istenič, L. & B. Bulog, 1976: Anatomske raziskave membranskega labirinta pri močerilu. (Anatomical investigations of membranous labyrinth in *Proteus*) (*Proteus anguinus* Laurenti, Urodela, Amphibia). Razprave SAZU, XIX/2: 21-59, Ljubljana.
- Istenič, L. & I. Ziegler, 1974: Riboflavin as "Pigmentö in the Skin of *Proteus anguinus* L. Naturwiss. 12: 686-687.
- Kos, M., 1992: Ultrastruktura kože močerila (*Proteus anguinus* Laurenti, Urodela, Amphibia) in primerjava kože nepigmentiranega in pigmentiranega osebk. (Fine structure of the skin of *Proteus anguinus* Laurenti (Urodela, Amphibia) and comparison of the skin of the pigmentless and the pigmented specimen.) Graduation thesis.
- Kos, M., B. Bulog, 1993: Differences between the fine structure of *Proteus anguinus* (Urodela, Amphibia) skin and the black pigmented *Proteus sp.* Proceedings Multinational Congress on Electron Microscopy: 439-440. Parma, Italy.
- Mali, L., 1992: Ultrastructure of the gut of *Proteus anguinus* (Amphibia, Urodela). Electron Microscopy. Vol. 3: Biological Sciences: 133 - 134, EUREM 92, Granada, Spain.
- Pristov, J., 1992: Raziskave kakovosti površinskih voda v Sloveniji v letu 1991. Hidrometeorološki zavod Republike Slovenije, Ljubljana.
- Sket, B., 1993: Nova rasa človeške ribice. (Kako se "naredi" novo podvrsto ali članek o članku). (New race of *Proteus*). *Proteus* 56: 3-11.
- Sket, B. & J.W. Arntzen 1994: A black, non-troglophic amphibian from the karst of Slovenia: *Proteus anguinus parkelj* n. ssp., (Urodela: Proteidae). Bijdragen tot de Dierkunde, 64(1): 33 - 53 Amsterdam.
- Sojar, A., 1980: Udeležba zračnega dihanja pri preskrbi močerila (*Proteus anguinus*) s

- kisikom. (Participation of air respiration in oxygen supply of *Proteus anguinus*.) Biol. vestn. 28: 83-98.
- Roth, A. & P. Schlegel, 1988: Behavioral evidence and supporting electrophysiological observations for electroreception in the blind cave salamander, *Proteus anguinus* (Urodela). Brain Behav. Evol. 32: 277-280.
- Roth, A. & P. Schlegel, 1994: Tuning of electroreceptors in the blind cave salamander, *Proteus anguinus*. Brain Behav. Evol. (submitted).
- Sand, O., 1981: The lateral line and sound reception. In: W.N. Tavolga, A.N. Popper and R.R. Fay (eds.), Hearing and Sound Communication in Fishes, p.p. 459-480. Springer Verlag, New York.
- Shuijf, A. & R.J.A. Buwalda, 1980: Underwater localization - A major problem in fish acoustics. In: A.N. Popper and R.R. Fay (eds.), Comparative Studies of Hearing in Vertebrates, p.p. 43-77. Springer-Verlag, New York.
- Turkeian, K.K. & K.H. Wadepohl, 1961: Distribution of the elements in some major units of the Earth's Crust. Geol. Soc. Amer. Bull., 72: 175-192.
- Vandel, A., 1965: Biospeleology. The Biology of Cavernicolous Animals. Pergamon Press. Oxford, London.
- Zakon, H.H., 1988: The electroreceptors: Diversity in structure and function. In: J. Atema, R.R. Fay, A. Popper and W.N. Tavolga (eds.) Sensory Biology of Aquatic Animals, p.p.: 553-593. Springer-Verlag, New York, Berlin.