

*Nachdruck verboten.
Übersetzungsrecht vorbehalten.*

(Aus dem anatomisch-biologischen Institut der Universität Berlin.)

Microsporidien aus Tipulidenlarven.

(Nosema binucleatum n. sp., Thelohania tipulae n. sp.)

Von

Richard Weissenberg.

(Hierzu 2 Textfiguren und Tafel 23—25.)

I. *Nosema binucleatum n. sp.* aus *Tipula gigantea.*

A. Einleitung.

Herr Geheimrat G. W. MÜLLER (Greifswald) hatte 1912 die Güte, mich auf eine Protozoeninfektion von Tipulidenlarven aufmerksam zu machen. An der Larve der größten europäischen Schnakenmücke *Tipula gigantea* waren ihm durch die Hypodermis durchschimmernde weißliche Herde aufgefallen. Er fand sie des öfteren an in Locarno (Südschweiz) gesammeltem Material. An übersandten Exemplaren konnte ich leicht feststellen, daß es sich um Cysten eines parasitischen Protozoons handelt. Nach dem Aussehen der Sporen war eine Microsporidie zu vermuten. Ich habe mich seitdem für den *Tipula*-Parasiten interessiert und versucht, seine Entwicklung und seine Stellung im System aufzuklären. Im Frühjahr und Herbst 1913 habe ich ein größeres Material infizierter Tipulidenlarven in Locarno selbst gesammelt, nachdem Herr Geheimrat G. W. MÜLLER als erfahrener Kenner der Biologie der Larven mich an Ort und Stelle mit ihrer versteckten Lebensweise und der Sammeltechnik vertraut gemacht hatte. Der Ausbruch des Krieges und die Inanspruchnahme durch andere Themata verzögerte lange Jahre die

abschließende Bearbeitung des 1913 gesammelten Materiales. Nur selten bot sich mir in den letzten 10 Jahren im deutschen Mittelgebirge Gelegenheit, Larven von *Tipula gigantea* zu finden. Erst auf einer Reise nach Südtirol im Herbst 1925 fand ich bei Bozen ähnlich ergiebige Fundorte wie seinerzeit in Locarno am Lago maggiore und konnte mich reichlich mit lebendem Material versehen. So ist es mir zurzeit möglich die Bearbeitung des Themas zu einem gewissen Abschluß zu bringen.

B. Lebensweise und Aufzucht der Larven von *Tipula gigantea*.

Die Lebensweise der Larve ist eine so verborgene, daß es auch für Zoologen nicht leicht ist, die Larve trotz der beträchtlichen Größe, die sie erreichen kann, zu finden. Einige genaue Hinweise sind daher hier angezeigt. Die Larve kommt dort vor, wo klare Rinnsale über Kies und Steingrund fließen und abgefallenes braunes Laub sich befindet, das ihr zur Nahrung dient. In Locarno waren es an den Fundstellen Edelkastanien, deren abfallende Blätter in von den Bergen kommende Wasserrinnen hineingerieten. Nur nach Regenfällen machten die Rinnen den Eindruck kleiner Bäche, bei trockenem Wetter sickerten sie mit nur wenig Wasser herab. Wenn man hier flache Steine an den Rändern der Wasserrinne umdreht, so kann man ziemlich sicher sein, zwischen Stein und Kiesgrund eine Larve von *Tipula gigantea* zu finden. Im Herbst (Anfang Oktober) haben dieselben im kontrahierten Zustande eine Länge von 1,5—2 cm, im gestreckten Zustand von 3—4 cm und eine Breite von 0,25 cm. Im Frühjahr (März) haben sie Dimensionen von 5 bis 6 cm Länge (in gestrecktem Zustande) und 0,5—0,6 cm Breite erreicht. Trotz dieser nicht unbeträchtlichen Größe wird man die Larven zunächst sehr leicht übersehen, weil sie in Form und schwarzbrauner Farbe Aststückchen gleichen, zunächst unbeweglich bleiben und sich von den dunklen Steinen und braunen Blättern optisch nur wenig abheben. In Fig. 1 sind junge Herbstlarven bei etwa doppelter Vergrößerung photographisch aufgenommen. Das kleinere Exemplar entspricht bei dieser Vergrößerung etwa den Dimensionen eines ausgewachsenen Tieres. Man kann in der Abbildung die segmentale Gliederung deutlich erkennen. Das Kopfe (o) der beiden Larven ist nach oben, das Schwanzende nach unten orientiert. An der Konfiguration des Schwanzendes kann man erkennen, daß man bei beiden Larven auf die Ventralseite sieht. Für diese sind 6 heller gefärbte Kiemenschläuche (k) charakteristisch, die ausgestreckt werden, sobald die Larve sich unter Wasser befindet.

In Fig. 2 sind diese Schläuche bei stärkerer Vergrößerung besser zu erkennen. Hier sieht man auch in der Mitte zwischen den Kiemen die Parasitencysten als weiße Pünktchen durch die Haut durchschimmern (c). Dieser Befund ist jedoch eine Ausnahme. Meist ist die Infektion bei der äußeren Betrachtung noch nicht zu erkennen. Bei der Ansicht von dorsal her (Fig. 3) sieht man die charakteristischen 6 Spitzen der Sternfigur des abgestutzten Schwanzendes und zwischen ihnen die beiden mächtigen Tracheenmündungen (Stigmen) st.

Unter ganz ähnlichen Lebensbedingungen wie bei Locarno habe ich die Larven von *Tipula gigantea* auch bei Bozen reichlich gefunden. Ebenso habe ich sie im Thüringer Wald bei Eisenach und in der sächsischen Schweiz bei Wehlen nicht vergeblich gesucht. Die Blätter der Edelkastanien wurden hier durch das abgefallene Herbstlaub anderer Bäume vertreten. Auch in der Ebene kommen die Larven, wenn auch seltener, vor. So konnte ich einige Exemplare auch aus der Nähe von Greifswald von Herrn Geheimrat MÜLLER erhalten, wo sie, wie GERBIG 1913 angibt, in einem Mühlbach auf Steinblöcken unter dichtem Moose gefunden wurden.

Die Infektion mit dem sogleich näher zu beschreibenden Parasiten ist eine sehr häufige. In Locarno habe ich jede Larve, die ich untersuchte, infiziert gefunden. Ebenso erwiesen sich in dem Bozener Material gleich die ersten Tiere, die ich präparierte, als infiziert. Von den bei Greifswald und in Thüringen gesammelten Tieren waren einige Exemplare von dem gleichen Parasiten befallen, die übrigen waren im frisch gefangenen Zustande frei von der Infektion. In der sächsischen Schweiz habe ich bei Wehlen nur ein einziges Exemplar gefunden. Dieses aber war von dem gleichen Parasiten infiziert.

Es ist nicht schwierig, die Larven von *Tipula gigantea* in Gefangenschaft zu halten. Herrn Geheimrat MÜLLER verdanke ich die Kenntnis einer sehr praktischen Methode, die auf der Reise gesammelten Larven zu transportieren. Sie besteht darin, daß die Larven beim Fang mit dem ihnen zur Nahrung dienenden braunen Laube in Beutel aus Sackleinwand gebracht werden. Täglich wird in die Beutel Wasser gegossen, das aus den aufgehängten Beuteln allmählich abtropft. Nach einigen Tagen müssen die Blattreste und die Larven in einer Schale mit Wasser abgespült werden, um die Kotreste zu entfernen. Im Laboratorium habe ich die Larven in mit Zink ausgeschlagenen Raupenkästen gehalten, deren Boden mit Kies belegt wurde. Auf den Kies kamen die Blätter und das Ganze

wurde mit Wasser überschichtet, das aber nur etwa 2 cm hoch über dem Kies stand, so daß die obersten Blätter nicht ganz vom Wasser bedeckt waren. Einen zu hohen Wasserstand muß man vermeiden. Sind die Larven verhindert an die Oberfläche zu kommen und wird dann nicht gleichzeitig für Durchlüftung des Wassers gesorgt, so sterben sie durch Erstickung. Als Futterlaub habe ich in Berlin abgefallene braune Blätter der deutschen Kastanie verwendet und damit auch Tiere aus der Südschweiz und Südtirol monatelang am Leben erhalten und zum Wachstum gebracht. Sie fressen die Blätter bis auf die Rispen auf. Das Wasser in den Raupenkästen wurde etwa alle Wochen erneuert und dabei auch die Futterblätter vom Larvenkot durch Abspülen befreit.

C. Die Parasitencysten und ihre Lage im Wirtskörper.

Nur ausnahmsweise läßt sich die Infektion der Larven bereits bei der äußeren Betrachtung mit der Lupe erkennen. Es ist dies der Fall bei der in Fig. 2 abgebildeten Larve. Hier schimmern zwischen den Kiemen die Parasitencysten als weiße Punkte durch die Haut durch. Schnitte ergeben, daß in einem solchen Exemplar in den Spalten zwischen den Organen an den verschiedensten Stellen Cysten liegen, die offenbar mit der Hämolymphe dorthin geschwemmt sind.

Wie gesagt, handelt es sich hier um Ausnahmefälle. In der Regel haben die Parasitencysten lediglich in der Wand des Mitteldarms ihren Sitz. Bei der äußeren Betrachtung der Larve sind sie daher noch nicht sichtbar. Tötet man eine Larve durch Chloroformdämpfe und schneidet sie an, so quillt aus der Wunde der Mitteldarm hervor, der von den verschluckten braunen Blattteilchen strotzend erfüllt ist und daher einen prallen cylindrischen Schlauch von brauner Farbe darstellt. An seinem oralen Ende befinden sich vier Blindschläuche, von denen in dem in Fig. 4 dargestellten Präparat eines auspräparierten und in Formalin konservierten Mitteldarms drei sichtbar sind (b). Wie diese Abbildung von einem reich infizierten Fall zeigt, heben sich die Parasitencysten als kreideweiße Fleckchen aufs deutlichste von ihrem dunklen Untergrunde ab (c). Es gilt dies natürlich nur für sporenerfüllte Cysten. Cysten, die jüngere membranlose Stadien enthalten, sind erst mit dem Mikroskop zu entdecken. An dem in Fig. 4 bei Lupenvergrößerung dargestellten Präparat erkennt man bereits, daß die Cysten verschieden groß sind. Abgesehen von den jüngsten später zu beschreibenden Cysten variiert ihre Größe im Flächenbild zwischen

40 \times 40 und 120 \times 120 μ . Ausnahmsweise werden Dimensionen von 170 \times 170 μ oder sogar 230 \times 200 μ erreicht. Aus Durchschnitten geht hervor, daß der Höhendurchmesser meist etwas geringer ist als die Ausdehnung in der Fläche. Kehren wir zu dem in Fig. 4 abgebildeten Präparat zurück, so erkennt man an diesem neben den Cysten noch in zarten hellen Linien eine Andeutung des Verlaufs der Darmmuskulatur (m), die aus sich kreuzenden inneren Ring- und äußeren Längsmuskelzügen besteht und sieht ferner einige sich verästelnde Tracheen (t), die an den Mitteldarm herantreten. Der Gürtel des Mitteldarms, der unmittelbar caudalwärts von den Blindschläuchen gelegen ist, muß als die Prädilektionsstelle für den Sitz der Cysten bezeichnet werden. An dem Locarnomaterial fand ich hier stets sporenerfüllte Cysten oder konnte an Quetschpräparaten der Darmwand hier jüngere noch durchsichtige Cysten auffinden.

Über die Lage der Cysten in der Darmwand orientiert man sich natürlich am besten an Querschnitten durch den Darm. Zunächst sei an der Hand von Fig. 5 das Querschnittsbild beschrieben, das eine nicht infizierte Stelle des Mitteldarms darbietet. Man sieht, daß der Mitteldarm mit einer Schicht hoher Cylinderepithelzellen ausgekleidet ist, die nach dem Lumen zu eine breite Cuticula (v) tragen. An ihrer Basis fassen sie kegelförmige Zellen mit kleinerem Kern (z) zwischen sich, die mit ihrem geringen Höhendurchmesser nicht bis an das Lumen reichen. Wahrscheinlich sind sie als Ersatzzellen aufzufassen. Ihr Plasma färbt sich bisweilen dunkler als das der hohen Cylinderepithelzellen, bisweilen ist es bei mittlerer Vergrößerung vom Zelleib der letzteren noch nicht abzugrenzen. Unter dem Epithel folgt der Teil der Darmwand, der von GRASSI (1901) für den Mitteldarm der Malaria mücke unter dem Namen Tunica elastico-muscularis zusammengefaßt worden ist. GRASSI versteht darunter eine „amorphe“ Grundsubstanzschicht von elastischem Verhalten, in die Muskelfasern eingelagert sind. Bei *Tipula gigantea* finde ich unter dem Epithel zunächst ein elastisches Fasernetz, dessen Maschen im Querschnittsbild nur als Pünktchen erscheinen (e). Dann folgen der Länge nach getroffene Ringsmuskelzüge (r). Weiter nach außen sind in Fig. 5 drei Längsmuskelfasern (l) im Querschnitt getroffen. Als Abschluß gegen die Leibeshöhle findet sich eine Membranlinie. Der Raum unter ihr und zwischen den Längsmuskeln erscheint in Fig. 5 zum Teil als Spaltraum, in den einige Leucocyten (w) eingelagert sind. Dieser Befund steht offenbar damit in Zusammenhang, daß der Schnitt nicht weit von einem größeren Infektionsherd entfernt liegt. An pathologisch nicht veränderten

Darmstellen jüngerer Larven erscheint dieser Raum völlig von einer homogenen Grundsubstanz ausgefüllt. Das in Fig. 5 im Querschnitt getroffene Rohr (t) ist eine Trachee.

Bei schwächerer Vergrößerung ist in Fig. 6 ein entsprechender Querschnitt durch ein infiziertes Mitteldarmstück abgebildet. Die Parasitenherde stellen sich hier als von einer dünnen Cystenmembran umschlossene Bläschen (a, b, c) dar, die reichlich die Keime des Parasiten enthalten. Man sieht deutlich, daß sie zwischen den im Präparat quer getroffenen Längsmuskelfasern (l) in die Grundsubstanzschicht eingelagert sind. Diese erscheint in dem vorliegenden Präparat an cystenfreien Stellen so bei g von zahlreichen Vakuolen und Spalten durchsetzt, so daß ihr Querschnittsbild hier an ein Netzwerk erinnert. Wie noch genauer gezeigt werden wird, scheinen die Cysten nichts anderes als mit Flüssigkeit und Parasitenkeimen erfüllte Vakuolen der Grundsubstanz darzustellen, die sich in ihrer Umgebung zur Cystenmembran verdichtet. Die Cystenmembranen stellen sich bei der Untersuchung mit starker Vergrößerung als homogene $0,5-0,75 \mu$ dicke Membranen dar, die genau das gleiche färberische Verhalten wie die Grundsubstanz aufweisen.

Prinzipiell wichtig erscheint der Umstand, daß in der Grundsubstanz außer den Zellen von Tracheenkapillaren und gelegentlich einigen ihre Spalten durchwandernden Phagocyten keine Zellen angetroffen werden. Es stimmt das völlig mit den Ergebnissen von LAZARENKO überein, zu denen dieser Histologe in einer gründlichen Studie 1925 generell für das Stützgewebe der Insekten gelangt ist. Nach LAZARENKO tritt das Stützgewebe der Insekten teils in Form von Fasernetzen, teils in Gestalt strukturloser Membranen auf. Beide Gebilde werden nach ihren morphologischen Charakteren den elastischen Elementen der Wirbeltiere verglichen. Die Membranen bestehen aus einer homogenen Grundsubstanz und sind im ausgebildeten Insektenkörper völlig zellenlos. Die Bildungszellen, die ein Syncytium darstellten, sind mit ihrem undifferenzierten Plasmarest und dem Kern gänzlich zugrunde gegangen.

Da ich auch bei noch nicht ausgewachsenen *Tipula*-Larven bereits die Grundsubstanz zwischen den Längsmuskelfasern des Darmes völlig zellenlos aber in relativ dicker Schicht finde, so vermute ich, daß bei dem Wachstum des Darmes keine Neubildung, sondern lediglich eine Dehnung und Aufblätterung der Grundsubstanzlage stattfindet. Die Spalträume, die sich in der Grundsubstanzschicht älterer Larven finden, kommunizieren mit der Hämolymphe der Leibeshöhle, so daß von dort aus Phagocyten einwandern können.

Sehr zierliche Präparate der die Cysten enthaltenden Tunica elastico-muscularis kann man nach folgender Methode herstellen. Der frisch auspräparierte Mitteldarm wird mit der Schere eröffnet und der Darminhalt abgestreift. Es wird nun die Darmwand halbflecht auf einem Deckglas ausgebreitet mit dem Epithel nach oben und das Epithel durch Abpinseln entfernt. Dann wird auf das so gewonnene Flächenpräparat ein zweites Deckglas aufgelegt und das Präparat entweder frisch untersucht oder es wird die Deckglaskammer in die Konservierungsflüssigkeit gelegt, die das Präparat im schön ausgebreiteten Zustande fixiert. Das Präparat kann dann nach Ablösung mindestens des einen Deckglases wie ein Schnitt gefärbt und in Balsam eingeschlossen werden. Fig. 8 zeigt ein Stückchen eines solchen Präparates bei schwacher, Fig. 9 bei mittlerer Vergrößerung. Unter den Cysten sieht man die dicht aufeinander folgenden Ringmuskelzüge (r). Zwischen den Cysten verlaufen in größeren Abständen die die Ringmuskeln unter rechtem Winkel kreuzenden Längsmuskelfasern (l). Während sich an den Längsmuskelfasern bei sorgfältiger Untersuchung Querstreifung nachweisen ließ, habe ich an den Ringmuskelzügen Querstreifung nicht erkennen können. Bei genauerer Untersuchung stellen sich die Ringmuskelzüge als ringförmig verlaufende Strahlen multipolarer einkerniger Zellen heraus, deren undifferenzierte Plasmakörper regelmäßige Längsreihen am Darne bilden. Den quergestreiften Längsmuskelfasern sind in unregelmäßigerer Anordnung und ziemlich großen Abständen einzelne Kerne von undifferenziertem Plasma umgeben angelagert, wie in Fig. 8 bei k zu sehen ist. Das in Fig. 9 bei mittlerer Vergrößerung gegebene Bild ist unter Kombination verschiedener Einstellungen der Mikrometerschraube gezeichnet. Es ist daher hier auch das Netz der elastischen Fasern eingetragen (e), das je nach der Orientierung des Präparates über oder unter der Schicht der Ringmuskeln bei Bewegung der Mikrometerschraube zum Vorschein kommt. Das Flächenpräparat zeigt deutlich, daß es sich um netzartig sich verbindende Fasern verschiedenen Kalibers handelt. Das in Fig. 8 dargestellte Präparat, bei dem in dem abgebildeten $1,0 \times 0,5$ mm großen Flächenraum 28 Cysten zu sehen sind, ist ein relativ schwach infizierter Fall. Bisweilen liegt eine Cyste dicht neben der anderen und die Gesamtzahl der Cysten am Mitteldarm kann weit über 1000 betragen.

Nachdem somit ein Überblick über die Anordnung der Cysten gegeben ist, soll auf den Parasiten selbst eingegangen werden, der wie die Fig. 6, 8 u. 9 zeigen, je nach der Größe der Cysten in

größerer oder geringerer Menge in ihnen enthalten ist. Die Untersuchung des Parasiten erfolgte an frischem und fixiertem Material teils an Zupfpräparaten, teils an Flächenpräparaten, die nach der beschriebenen Methode gewonnen wurden. Außerdem wurden Paraffinschnitte angefertigt. Wegen der geringen Zellgröße des Parasiten mußten Linsen, die eine starke Vergrößerung geben, zur Anwendung kommen. So wurde meist mit $\frac{1}{18}$ Ölimmersion LEITZ und Kompensationsokular 8 gearbeitet und damit eine 1750fache Vergrößerung erzielt.

D. Sporen und Sporoblasten.

Die Sporen des Parasiten stellen länglich eiförmige Körperchen dar, bei denen das eine Polende nur ein wenig stumpfer erscheint als das andere. Die Sporen haben einen starken Glanz und sehen fast homogen aus, da offenbar der Sporenhalt fast das gleiche Lichtbrechungsvermögen hat wie die Sporenhülle. Bei Anwendung starker Vergrößerung kann man, wie Fig. 10 Taf. 24 zeigt, am stumpfen Pol dicht unter der Membran eine schmale Vakuole erkennen, die im optischen Durchschnitt kappen- oder sichelförmig erscheint und meist etwas schräg steht, indem sie mit dem einen Ende der Sichel ein wenig weiter herabreicht. Die Dimensionen der Sporen variieren nicht unbeträchtlich. So wurden neben Sporen von $6,75 \times 3 \mu$, solche von $5,25 \times 3 \mu$, $5,25 \times 2,6 \mu$, $4,5 \times 2,6 \mu$ und $4,35 \times 2,85 \mu$ beobachtet. Durch den Nachweis des Austritts eines Polfadens ließ sich leicht feststellen, daß es sich um die Sporen einer Microsporidie handelt. Es genügte die Sporen 24 Stunden in Kochsalz liegen zu lassen, um an einer Reihe von ihnen den Austritt des Polfadens konstatieren zu können. Die Länge des ausgeschnellten Polfadens betrug meist das Zehnfache der Sporenlänge. Der Austritt erfolgt an dem der Vakuole entgegengesetzten weniger stumpfen Pole. Ein Teil der Sporen mit ausgeschnelltem Faden erwies sich in den Kochsalzpräparaten als leer. Hier konnte man gut erkennen, daß die Sporenmembran von ziemlicher Dicke ist. Denn da der stark lichtbrechende Inhalt der Spore verschwunden ist, tritt die Membran nunmehr im optischen Durchschnitt deutlich doppelt konturiert hervor (Taf. 24 Fig. 7).

Es sei gleich hier erwähnt, daß die Struktur der frischen Spore, die durch die eigentümlich schräg gestellte kalottenförmige Vakuole ausgezeichnet ist, unter den bisher beschriebenen Microsporidien am meisten an *Stempellia magna* KUDO erinnert. Denn wie ich dem ausgezeichneten 1924 erschienenen zusammenfassenden Microsporidien-

werk von KUDO entnehmen kann, weist auch bei dieser Form ein großer Teil der Sporen am stumpfen Ende eine kleine Vakuole auf, die unter anderem „kappenförmig gestaltet“ sein kann. KUDO bildet in seinen Fig. 589 u. 590 drei frische Sporen mit der polständigen Vakuole ab. In zwei dieser Sporen hat die Vakuole ganz ähnlich wie bei dem *Tipula*-Parasiten eine ausgesprochen schräge Stellung. Ein weiterer Vergleichspunkt ergibt sich daraus, daß auch bei *Stempellia magna* der Austritt des Polfadens am entgegengesetzten Pole erfolgt.

Gehe ich zur Beschreibung der Sporen unseres Parasiten in Dauerpräparaten über, so zeigt Fig. 11 Taf. 24 das Bild, das die Sporen auf in Balsam eingebetteten Totalpräparaten aufweisen nach Fixierung mit FLEMMING'scher Flüssigkeit und Färbung mit Safranin-Lichtgrün. Während die Membran als heller ungefärbter Hof erscheint, ist der Sporenhalt stark durch Osmium gebräunt und soweit die Osmierung etwas schwächer ausgefallen ist, durch das Safranin intensiv gefärbt, so daß die Sporen im ersten Falle braunschwarz, im zweiten braunrot erscheinen. An zwei von den vier abgebildeten Sporen ist auch die kleine polständige Vakuole ähnlich wie im Leben zu erkennen und zwar weist sie bei Spore a die typisch schräge Stellung auf.

In Fig. 12 sieht man aus dem gleichen Präparat zwei jüngere Sporen mit zarterer Membran (b u. c). Hier ist die Safraninfärbung des Sporenplasmas noch so schwach, daß die intensiv rot gefärbten Kerne nicht verdeckt werden. Man erkennt in jeder Spore deutlich zwei Kerne. In der Spore b stehen sie sich in der Mitte der Spore diplococccenartig, also wie zwei Semmelhälften gegenüber. Die Lage des Kernpaares in Spore c nicht genau in der Mitte, sondern etwas nach dem einen Pol zu, ist, wie wir gleich sehen werden, die typische Position. Ganz ähnlich fällt, wie Fig. 13 demonstriert, das Bild junger Sporen in Schnittpräparaten aus, die nach Formalinfixation mit Hämatoxylin gefärbt sind. Der Kontur der Sporenmembran ist hier im Balsampräparat nur zum Teil zu erkennen und die Sporen sind natürlich im ganzen durch die Paraffineinbettung merklich geschrumpft. Färbt man Ausstrichpräparate von Sporen, die mit Sublimat-Alkohol nach SCHAUDINN fixiert sind, mit Hämatoxylin, so dringt, wie Fig. 14 bei Spore d zeigt, die Farbe nicht immer durch die dicke Sporenhülle hindurch. Bisweilen ist dies aber doch der Fall und es gelingt dann Sporen auch noch auf dem Stadium zu färben, auf dem ihre feinere Innenstruktur nach FLEMMING-Fixation durch die starke Osmierung schon völlig verschleiert ist. Während

in Spore e sich die Kernpartie als scheinbar homogener Streifen markiert, ist in Spore f wiederum ihre Zusammensetzung aus zwei Kernkomponenten, wenn auch nicht so deutlich als auf den vorgeführten jüngeren Stadien, zu erkennen.

Am klarsten zeigt die Untersuchung von Sporoblasten, bei denen die Sporenmembran erst in der Anlage begriffen ist, daß ein Paar von zwei identisch aussehenden Kernen die Kernkomponente der Spore repräsentiert. Fig. 15 zeigt eine Gruppe solcher Sporoblasten aus einem mit FLEMMING'scher Flüssigkeit konservierten und mit Safranin-Lichtgrün gefärbtem Schnittpräparat. Die Sporoblasten sind hier in den Cysten leicht daran zu erkennen, daß sie schon die ausgesprochen längliche Gestalt der Sporen und auch bereits eine leichte Safranophilie des Plasmas zeigen. Man erkennt in ihnen aufs deutlichste zwei dicht nebeneinander liegende gleichgroße bläschenförmige Kerne. Während der eine Kern etwa die Mitte des Sporoblasten markiert, liegt der andere nach demjenigen Pol zu, der wahrscheinlich dem stumpferen Pole der ausgebildeten Spore entspricht. Die an diesem Pole im Sporoblasten g sichtbare Vakuole könnte somit der oben beschriebenen Sporenvakuole entsprechen. Am Gegenpole, also demjenigen, an dem der Polfaden austritt, lassen die in Fig. 15 abgebildeten Sporoblasten sämtlich ein scharf mit Safranin gefärbtes Körnchen erkennen. Dasselbe erinnert an eine Struktur, die ich 1913 (S. 128) in den Sporoblasten von *Glugea anomala* beschrieben habe. Auch dort ließ sich nahe dem Austrittspole des Polfadens eine sich intensiver färbende Verdichtung im Plasma auffinden, die mir zur Ausbildung des Polfadens in Beziehung zu stehen schien. Übrigens zeigen nicht alle nach FLEMMING fixierten und mit Safranin gefärbten Sporoblasten so deutlich das Polkörnchen. Die in Fig. 15 abgebildete Gruppe ist aus drei benachbarten Cysten zusammengestellt. Ergänzt sei das Bild, das die Sporoblasten nach FLEMMING-Fixation bieten, noch durch die Abbildung eines nach SCHAUDINN fixierten und mit Hämatoxylin gefärbten Totalpräparates (Fig. 16). Die beiden hier dargestellten Sporoblasten zeigen im Prinzip ein ähnliches Aussehen wie die nach FLEMMING fixierten. Doch ist an ihnen das Polkörnchen nicht oder wenigstens nicht so deutlich zu erkennen und die Kerne, die dort ausgesprochen bläschenförmig waren, haben hier ein kompaktes Aussehen. Daß es sich aber um ein Kernpaar handelt, ist auch hier auf das deutlichste zu sehen.

Überblicken wir das bisher Ermittelte, so konnte als erstens festgestellt werden, daß es sich bei dem Parasiten um eine Micro-

sporidie handelt, und zweitens, daß die im frischen Zustande in ihrem Habitus an *Stempellia magna* erinnernde Spore durch den Besitz von zwei identisch aussehenden und im Sporoplasma nebeneinander liegenden Kernen ausgezeichnet ist.

Sehe ich von Microsporidien ab, bei denen zwei Kerne in jungen Sporen als Durchgangsstadium zu einem als mehrkernig gedeuteten Zustande beschrieben worden sind, wie z. B. bei *Thelohania chaetogastris* (SCHRÖDER 1909), so sind Sporen mit Doppelkern als Dauerzustand, soweit ich sehe, bisher nur in 5 Fällen bekannt geworden. Es sind dies *Nosema bryozoides* und *Nosema glossiphoniae* nach SCHRÖDER (1914), *Perezia mesnili* und *Perezia legeri* nach PAILLOT (1918) und *Octospora muscae-domesticae* nach CHATTON und KREMPF (1911). Von diesen erinnern auf Grund der von den Autoren gegebenen Figuren am meisten an das Doppelkernbild des *Tipula*-Parasiten die beiden *Perezia*-Arten. Eine gewisse Ähnlichkeit zeigen auch einige der für die Sporen von *Octospora muscae-domesticae* gegebenen Figuren.

E. Schizogonie.

Untersucht man annähernd ausgewachsene Larven von *Tipula gigantea* im April, so findet man in ihnen zahlreiche Cysten von 100 μ Durchmesser und darüber, die lediglich mit reifen Sporen gefüllt sind. Ein solches Verhalten zeigt z. B. in dem in Fig. 6 abgebildeten Präparat die mit a bezeichnete Cyste. In anderen Fällen findet man die Sporenhaufen mit Gruppen von Sporoblasten und jüngeren Stadien vermengt, die noch völlig membranlos sind (Fig. 6 Cyste b) oder die (in Fig. 6 blaß gezeichneten) membranlosen Stadien überwiegen, und zwischen ihnen beginnen erst einige Sporen hervorzutreten (Fig. 6 Cyste c). Von vornherein sei betont, daß auch in den letztgenannten Cysten die Anordnung der Sporen und Sporoblasten eine völlig regellose ist.

Bei den großen Larven im Frühjahr kann man bisweilen ferner auch noch Cysten finden, die lediglich Haufen von nackten jüngeren Entwicklungsstadien des Parasiten enthalten. Doch sind dieselben wegen der großen Zahl dicht nebeneinander liegender Zellen für die Untersuchung meist sehr unübersichtlich. Am schönsten kann man die Entwicklung des Parasiten an jungen Larven im Herbst studieren, bei denen die Cysten noch ganz klein sein können und entsprechend weniger Zellen enthalten, die klarer zu untersuchen sind. Man erkennt dann an solchen Präparaten, wie Fig. 21 zeigt, daß die Vermehrung des Parasiten in den Cysten sich durch

eine typische Sprossung von Schizonten vollzieht. Zellen von ovaler Form wachsen unter Kernvermehrung zu Sproßketten aus. Zunächst können die Glieder der Kette dicht hintereinander liegen (Fig. 21 a u. b). Dann weichen die Kernterritorien weiter auseinander (c) und es kommt zu Abschnürungen von kürzeren Sproßketten (Fig. 21 d) und schließlich zur Abtrennung von Einzelzellen (Fig. 21 e), deren Kernverhalten aber anzeigt, daß sie ihrerseits wieder den Ursprung für neue Sproßketten abgeben.

Es sei nunmehr auf das Kernverhalten der Schizonten genauer eingegangen, das recht eigentümlich und sehr charakteristisch für den Parasiten ist. In dem ziemlich homogenen sich mit DELAFIELD'schem Hämatoxylin leicht bläulich färbenden Plasma des länglichen Schizonten findet sich in der Mitte ein heller Saftbezirk und in diesem zwei Kerne von kompakter Beschaffenheit und bohnenartiger Gestalt, die einander oft dicht wie zwei Semmelhälften oder die Hälften einer Kaffeebohne gegenüberstehen und dann an einen stark vergrößerten Diplococcus erinnern. Wenn ein solcher Doppelkern sich teilt, so ist nichts von den schönen Hantelfiguren zu beobachten, wie sie bei manchen anderen Microsporidien vorkommen und z. B. von mir selbst genauer bei *Glugea anomala* (1913) beschrieben wurden. Vielmehr spaltet sich zunächst jede Kernkomponente für sich durch. Es liegen dann nicht mehr wie in den Schläuchen a u. b im Saftbezirk des Schizonten zwei ganze bohnenförmige Kerne einander gegenüber, sondern es schließt, wie z. B. die Schizontensproßketten f u. g zeigen, der Saftbezirk nunmehr zwei Zweiergruppen von kompakten Chromatinelementen ein. Oft scheint es sich bei schwächerer Vergrößerung in den Schizonten noch um einen einfachen Doppelkern zu handeln, die starke Vergrößerung zeigt dann aber doch in zahlreichen Fällen, wie auch eine Betrachtung von Fig. 21 eventuell unter Zuhilfenahme einer Lupe ergibt, daß jede Komponente des Doppelkernes schon der Länge nach durchgespalten ist. Es ist klar, daß, wenn nun die beiden Zweiergruppen auseinanderrücken und jede Zweiergruppe ihren eigenen Kernsaftbezirk erhält, aus dem ursprünglich doppelkernigen Schizonten nunmehr eine Sproßkette von zwei Schizonten mit je einem Doppelkern entstanden ist. Wenn dieser Vorgang sich schnell wiederholt, die Abschnürung der Schizonten vom Sproßverband sich aber weniger rasch vollzieht, so werden die längeren Schizontenketten entstehen, wie sie in Fig. 21 bei a, b, c, h dargestellt sind.

Schizontensproßketten sind bekanntlich schon für zahlreiche andere Microsporidien beschrieben worden. So sei an die Schizogonie

von *Nosema bombycis* und *Thelohania mülleri* nach STEPELL (1909 und 1902) oder an die Sproßketten erinnert, die ich selbst (1911) für *Nosema lophii* beschrieben habe. Aber nicht nur für die Sproßkettenbildung, sondern auch für die Doppelkernigkeit der Schizonten des *Tipula*-Parasiten gibt es Parallelen bei anderen Microsporidien. So sind Ketten von doppelkernigen Schizonten, die in ihrem Habitus außerordentlich an die von mir bei dem *Tipula*-Parasiten beobachteten, erinnern, von PAILLOT (1918) für *Perezia mesnili* und *Perezia legeri* beschrieben worden. Auch hier weisen die Schizonten zwei von einer gemeinsamen Vakuole eingeschlossene Kernkomponenten auf, die nach Lage und Gestalt mit den Hälften einer Kaffeebohne verglichen werden. Doppelkernige Schizogoniestadien sind ferner unter anderen von KUDO (1924) für *Stempellia magna* und für *Thelohania opacita* und OMORI (1912) für *Nosema bombycis* beschrieben worden.

F. Junge Cysten und ihre Entstehung.

Kehren wir nach diesem kurzen Vergleich mit der Schizogonie anderer Microsporidien zu dem *Tipula*-Parasiten zurück, so kann die Vermehrung dieser Microsporidie innerhalb der Cysten durch Sprossung, wie sie soeben an der Hand von Fig. 21 geschildert wurde, als völlig klargestellt gelten. Die jüngste von mir beobachtete Cyste ist in Fig. 19 nach dem Leben skizziert und in Fig. 20 nach dem konservierten und gefärbten Flächenpräparat zur Darstellung gekommen. Der größte Durchmesser der zwischen Deckglas und Objektträger leicht komprimierten Cyste beträgt nur $15,4 \mu$. Die Cyste enthält erst 3 Schizonten, die frei in Flüssigkeit liegen. Nichts deutet darauf hin, daß die Cyste etwa auf Kosten einer Wirtszelle entstanden ist. Ihre Genese scheint vielmehr so zu sein, daß um einen — vermutlich unter Durchwanderung des Darmepithels — bis in die Grundsubstanz der Tunica elasticomuscularis gelangten Schizonten eine Vakuole entsteht, die sich durch eine Cystenmembran gegen die übrige Grundsubstanz abgrenzt. Innerhalb des mit Flüssigkeit gefüllten Cystenbläschens vermehrt sich dann der Parasit durch Sprossung. Gleichzeitig bläht sich unter Diffusion von Nahrungssäften das mit Flüssigkeit gefüllte Cystenbläschen immer mehr auf, bis es mit einem Durchmesser von 120 und nur ausnahmsweise 200μ seine Endgröße erreicht hat.

In dem in Fig. 20 abgebildeten jüngsten Entwicklungsstadium sind, wie gesagt, erst 3 Schizonten zur Ausbildung gekommen. Die beiden unteren scheinen noch in Sproßverband zusammenzuhängen. Jeder Schizont enthält einen Doppelkern. Die beiden Komponenten

des Doppelkernes des oberen Schizonten (a) scheinen noch durch einen Strang färbbarer Kernsubstanz verbunden zu sein. Bei älteren Schizonten habe ich ähnliche Bilder, die an eine hantelförmige Kernteilung erinnern könnten, nie beobachtet.

G. Sporogonie.

In den größer gewordenen Cysten junger Larven treten die ersten Sporoblasten und Sporen neben den Schizonten auf, ohne daß Bilder beobachtet wurden, die auf eine Gruppenentstehung derselben hinweisen könnten. Sie liegen vielmehr stets einzeln und in regelloser Verteilung. Da außerdem doppelkernige Zellen wie die in Fig. 17 abgebildeten sich auffinden lassen, die als Übergangsformen von abgeschnürten Schizonten zu Sporoblasten gedeutet werden können, so ist es mir sehr wahrscheinlich, daß die Sporogonie des Parasiten sich nach dem einfachen *Nosema*-Typus vollzieht, bei dem das Schizogonieprodukt am Ende der Sprossungsperiode direkt zum Sporoblasten wird. Der *Nosema*-Typus steht bekanntlich im Gegensatz zu dem komplizierten Verlauf der Sporogonie anderer Microsporidiengattungen, bei denen aus Schizonten zunächst die Sporonten hervorgehen. Diese liefern durch Teilungsschritte, deren Anzahl für die einzelnen Gattungen charakteristisch ist, meist innerhalb einer Pansporoblastenmembran eine größere oder geringere Anzahl von Sporoblasten, die sich dann zu den Sporen umwandeln. Für eine Anzahl von Gattungen ist von DEBAISIEUX und KUDO angegeben worden, daß die Sporontenbildung mit einem Befruchtungsvorgang beginnt, der autogamer Natur ist. Zwei Befruchtungskerne, die nebeneinander schon eine Anzahl paralleler sog. „conjugierter“ Kernteilungen durchgemacht haben können, verschmelzen zu dem einheitlichen Sporontenkern, der somit einem Zygotenkern entspricht. Bei *Nosema*-Arten sind, soweit ich sehe, Befruchtungsvorgänge gleichfalls autogamer Art bisher nur an einer ganz anderen Stelle des Entwicklungskreises, nämlich für frisch aus den Sporen ausgeschlüpfte Keime, angegeben worden. So wird für *Nosema apis* von FANTHAM und PORTER (1912) und für *Nosema bombycis* von KUDO (1916) angegeben, daß die aus den Sporen ausgeschlüpfte Keime zunächst zweikernig sind, die beiden Kerne dann aber als Befruchtungskerne zum einheitlichen Zygotenkern verschmelzen. In den relativ jungen Cysten des *Tipula*-Parasiten habe ich Bilder, die auf einen autogamen Befruchtungsprozeß hindeuten könnten, nicht beobachtet.

H. Rosettenmodifikation der Schizogonie.

Auch für die älteren Cysten des *Tipula*-Parasiten bin ich zu dem Resultat gekommen, daß sich die Sporogonie hier ebenfalls nach dem einfachen *Nosema*-Typus vollzieht. Eine Komplikation wird hier nur dadurch geschaffen, daß in den älteren Cysten Modifikationen der Schizogoniesprossung auftreten, die vermutlich der Sporogonie dicht vorausgehen. So werden hier bisweilen die in Fig. 22—30 abgebildeten Entwicklungsstadien beobachtet. Es handelt sich hier um eine Entwicklungsreihe, die von doppelkernigen Schlauchzellen zu Viererkreuzen und Achterrosetten führt. Sie sei kurz als Rosettenreihe bezeichnet. Da die Rosettenzellen ihren Zusammenhang verlieren, ohne daß Sporoblastencharaktere an ihnen aufgetreten sind, so glaube ich nicht, daß man berechtigt ist, die Rosettenreihe schon zur Sporogonie selbst zu rechnen. Dagegen ist es mir ziemlich wahrscheinlich, daß es sich hier um Entwicklungsprozesse handelt, die der Sporogonie unmittelbar vorausgehen. Die aus dem Rosettenverband sich lösenden Zellen würden dieser Auffassung nach in den meisten Fällen nicht von neuem Schizogonieteilungen durchmachen, sondern der Ausgangspunkt einer sich nach dem *Nosema*-Typus vollziehenden Sporogonie werden.

Die schlauchförmigen Ausgangszellen (Fig. 22) unterscheiden sich von den in den jüngeren Cysten beobachteten Abschnürungsprodukten der Schizontenketten durch ihr dichteres Plasma, die genau zentrale Lage des Doppelkernes und die regelmäßige Form, die als zigarrenähnlich bezeichnet werden kann. In der Form erinnern die doppelkernigen Schlauchzellen außerordentlich an die Primärschläuche die ich (1913) für *Glugea anomala* beschrieben habe. Wie ich mich seitdem überzeugen konnte und auch (1921) zum Teil schon veröffentlicht habe, geht auch bei *Glugea anomala* dem Auftreten der Primärschläuche eine typische Schizontensprossung voraus. Die Schlauchzellen leiten demnach sowohl bei *Glugea anomala* wie bei dem *Tipula*-Parasiten eine zur Sporenbildung führende Entwicklung ein, ohne daß man sie als Sporonten im engeren Sinne bezeichnen könnte.

Die Entwicklung der doppelkernigen Schlauchzellen zu den Rosetten läßt sich auf Grund der in Fig. 22 u. 25—30 abgebildeten Präparate im einzelnen folgendermaßen skizzieren. Den Ausgangspunkt bilden Schläuche von der in Fig. 22 bei a u. b abgebildeten Art. Ihr Doppelkern besteht aus zwei einfachen Kernkomponenten, ganz ähnlich wie wir es bei ruhenden Schizontenkernen sahen.

Wie die übrigen in Fig. 22 dargestellten Schlauchzellen, so z. B. die beiden mit c bezeichneten Schläuche erkennen lassen, geht die weitere Entwicklung so vor sich, daß sich jede Kernkomponente des Doppelkernes durchspaltet. Wir haben dann eine Schlauchzelle vor uns, die in ihrer Mitte zwei Zweiergruppen von Kernelementen einschließt. Rückt nun die eine Zweiergruppe an den einen Pol, die andere an den anderen Pol und zieht sich dabei das Plasma in der Mitte zu einem dünneren Strang aus, so haben wir einen Schlauch mit keulenartig angeschwollenen Enden vor uns, wie es in Fig. 25 dargestellt ist. Wenn sich weiterhin jeder Doppelkern eines solchen Schlauches in seinen Komponenten wiederum durchspaltet, so daß an den keulenartig angeschwollenen Enden des Schlauches nicht mehr ein sondern zwei Doppelkerne liegen und wenn weiterhin dann zwischen diesen Tochterzellkernen eine Längsdurchschnürung der Keulenden erfolgt, die die Keulensiele nicht mitbetrifft, so haben wir eine Viererfigur vor uns, wie sie in Fig. 26 dargestellt ist. Übrigens scheint das in Fig. 27 abgebildete Präparat darauf hinzuweisen, daß das gleiche Resultat auch auf anderem Entwicklungswege erreicht werden kann. Man sieht hier einen perlenkettenartigen Schlauch, bei dem jedes Perlenglied einen Doppelkern einschließt. Die Doppelkerne sind von so besonderer Größe, daß es mir nicht wahrscheinlich ist, daß dieses Gebilde zu den gewöhnlichen Schizontensproßketten gehört. Vielmehr glaube ich, daß es sich hier um ein Rosettenentwicklungsstadium handelt, das aus einer Schlauchzelle dadurch entstand, daß vor dem Auseinanderrücken der Tochterdoppelkerne diese sich durch erneute Teilung in vier Enkeldoppelkerne umwandelten. Durch ein entsprechendes Auswachsen der Plasmabrücken zwischen den vier Doppelkernen könnte auch hier eine Viererfigur entstehen. In diesem Sinne dürfte der in Fig. 28 abgebildete noch etwas unregelmäßig gestaltete Vierer zu deuten sein.

Ich halte es für möglich, daß bei einem Teil der Viererfiguren die Rosettenentwicklung nicht mehr weiter geht, sondern durch Abschnürung von der zentralen Verbindung vier sich später in Sporblasten verwandelnde Zellen resultieren. Bei einem anderen Teil setzt sich aber zweifellos die Entwicklung bis zur Achterrosette fort. Zunächst spalten sich in den mit ihren Stielen zusammenhängenden vier Keulen oder, wie man vielleicht besser sagen kann, „Birnen“ die exzentrisch gelegenen Doppelkerne von neuem durch, so daß an jedem Birnengrunde wiederum zwei Tochterdoppelkerne gelegen sind. Der Anfang dieser Entwicklung ist in Fig. 26 in

zwei der vier Birnen bereits zu erkennen. Eine Längsdurchschnürung der Birnen zwischen den Tochterdoppelkernen, die die Stiele nicht mitbetrifft, muß zur Entstehung einer Achterfigur führen. Den noch nicht ganz abgelaufenen Entwicklungsprozeß demonstriert Fig. 29. Wir haben hier eine Rosette vor uns, bei der in drei Mutterbirnen die Durchschnürung bereits erfolgt ist, so daß sechs Tochterbirnen mit ihren Stielen zusammenhängen. In der vierten Mutterbirne dagegen bei e ist die Durchschnürung zwischen den bereits gebildeten Tochterdoppelkernen noch nicht erfolgt. So ergibt sich eine eigentümliche Rosettenfigur, die aus sechs Tochterbirnen mit einfachem Doppelkern und einer Mutterbirne mit doppeltem Doppelkern besteht. Den Abschluß des Prozesses schließlich zeigt Fig. 30. Hier ist eine Achterfigur ausgebildet, die aus acht Birnen besteht, deren jede nur einen einzigen exzentrisch gelegenen Doppelkern einschließt. Vermutlich lösen sich die acht Zellen dann von ihrem zentralen Zusammenhang los und wandeln sich später in Sporoblasten um.

Vergleicht man die in Fig. 29 u. 30 dargestellten Endglieder der Rosettenreihe mit den in Fig. 22 abgebildeten Ausgangszellen, so ist zweifellos das Gesamtvolumen des Plasmas während dieser Entwicklung gewachsen. Die einzelnen zum Rosettenverband gehörigen Zellen aber sind merklich kleiner als die Ausgangszellen. So stehen auch die Zellen der Achterrosetten an Größe gegenüber den Zellen der Viererkreuze nach und werden erst recht gegenüber den doppelkernigen Zellen an Umfang zurückbleiben, die in den jungen Cysten ohne Einschaltung der Rosettenentwicklung zu Sporoblasten werden. Zugunsten der oben vertretenen Auffassung, daß die Zellen der Rosettenreihe sich bald nach Lösung ihres Zusammenhanges in Sporoblasten umwandeln, kann unter diesen Umständen auch angeführt werden, daß sie eine einfache genetische Erklärung an die Hand geben würde für die hochgradige Variation in der Sporengröße, auf die oben aufmerksam gemacht wurde.

Fasse ich die Resultate zusammen, zu denen ich bezüglich der Sporogonie des Parasiten an den jungen und älteren Cysten gelangt bin, so hat sich folgendes ergeben. Die Sporenbildung des *Tipula*-Parasiten spielt sich stets nach dem einfachen *Nosema*-Typus ab, bei dem nur ein einziger Sporoblast aus dem Sporonten hervorgeht, so daß die Begriffe Sporont und Sporoblast hier zusammenfallen. Während aber in den jungen Cysten die Sporoblasten aus Schizogonieprodukten hervorgehe, ohne daß diese noch zuvor der Ausgangspunkt besonderer Teilungen werden, kann sich in älteren Cysten nach dem Ablauf der Schizontensprossung vor der Sporogonie

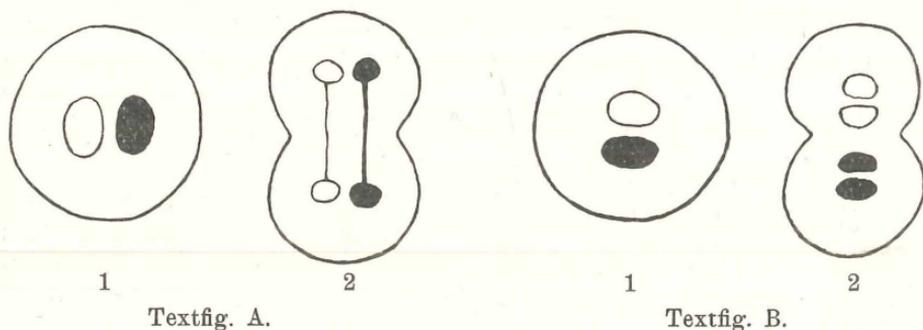
noch die Rosettenentwicklung einschieben. Sie beginnt mit schlauchförmigen Zellen, die vermutlich unmittelbar von gewöhnlichen Schizogonienprodukten abzuleiten sind. Auch in den mittelgroßen Cysten sind die Rosetten nicht so häufig anzutreffen, daß man ihr Auftreten als ein völlig gesetzmäßiges und nicht nur als eine Modifikation der Entwicklung anzusehen hätte. Jedenfalls deuten aber die regelmäßigen Bilder der Rosettenreihe auf einen normalen Entwicklungsprozeß hin.

Im Gegensatz hierzu glaube ich vielkernige Kugeln, wie sie in Fig. 18 abgebildet sind, mit ihrem mehr unregelmäßigen Bau als abnorme Modifikation der Schizogonie auffassen zu müssen. Sie kamen nur bei gewissen Exemplaren und auch hier nur in einem Teil der mittelgroßen Cysten zur Beobachtung. Aufteilungsstadien der vielkernigen Kugeln wurden nie beobachtet. Dafür, daß es sich hier um eine degenerative Entwicklung handelt, spricht auch der Umstand, daß sie besonders reichlich sich in einem Fall fanden, bei dem die Cysten sich größtenteils von der Darmwand abgelöst hatten und zwischen den Organen flottierten.

Ebenfalls als pathologisch und zwar als degenerativ veränderte Ausgangsglieder der Rosettenreihe fasse ich die in Fig. 23 u. 24 dargestellten, stark in die Länge gezogenen Schlauchzellen auf, deren Doppelkernkomponenten teils in Granula aufgelöst, teils langgestreckt sind.

Die Stadien der Rosettenentwicklungsreihe (Fig. 22—30) zeigen ebenso wie die Glieder der Sproßketten (Fig. 21) ein zähes Bewahren des Doppelkernes. Sichere Bilder von Kernverschmelzung, die einem Autogamievorgang entsprechen könnten, wurden in den älteren Cysten ebensowenig wie in den jungen beobachtet. Nach FLEMMING-Fixation der ganzen Larven, bei der die Osmiumsäure nicht so schnell zur Einwirkung gelangt wie bei der Fixierung des auspräparierten Darmes, stellt sich der Doppelkern als ein Paar dicht nebeneinander liegender bläschenförmiger Kerne dar. An solchen Präparaten kann es bisweilen schwierig sein, die beiden Kernbläschen gegeneinander abzugrenzen. Da diese Schwierigkeit aber auch für Formen besteht, die sich wie die charakteristischen Figuren der Rosettenreihe mit Bestimmtheit mit Stadien identifizieren lassen, die bei schneller einwirkender Fixation ganz klar getrennte Doppelkernkomponenten aufweisen, so kann ich jene Bilder nur im Sinne einer scheinbaren Verschmelzung deuten, die durch unvollkommene Fixation vorgetäuscht ist. Trotzdem wäre es natürlich möglich, daß mir ein echter Autogamievorgang entgangen ist, der

sich etwa vor der Schlauchzellenbildung einschieben könnte. Wahrscheinlich ist mir dies jedoch nicht und zwar darum, weil ein wichtiges Kriterium fehlt, das wenigstens bei einer Anzahl jener Microsporidien zur Beobachtung gelangt ist, für die Autogamie beschrieben wurde. Es sind dies die conjugierten Kernteilungen, die das Diplocaryon vor der Verschmelzung zum Zygotenkern durchmacht. Man versteht darunter den Vorgang, daß die gepaarten Geschlechtskerne vor ihrer völligen Vereinigung noch eine oder mehrere Kernteilungen durchmachen, bei denen die Teilungsfiguren parallel nebeneinander liegen. Diese Erscheinung, wohl am schönsten ausgeprägt bei gewissen Haplosporidien, wurde für Microsporidien von DEBAISIEUX für *Thelohania varians*, *multispora*, *bracteata* und *Plistophora simulii* und ähnlich von KUDO für *Thelohania legeri* beschrieben. Durch die conjugierte Kernteilung wird, wie aus der schematischen Textfig. A zu ersehen ist, bewirkt, daß der Doppelkern der Tochterzellen genau so wie der Doppelkern der Mutterzelle zusammengesetzt ist. Gehen wir im Schema von der Paarung eines „männlichen“ schwarz und eines „weiblichen“ weiß markierten Kernes aus (A 1), so bewirkt die conjugierte Kernteilung (A 2), daß in jede Tochterzelle ein Abkömmling des männlichen wie des weiblichen Kernes gelangt.



Eine Streckung der nebeneinander liegenden Komponenten des Doppelkernes zu parallelen Teilungsfiguren habe ich bei der mir vorliegenden Form mit Sicherheit nie beobachtet. Die in Fig. 23 rechts abgebildete Schlauchzelle (a), deren Doppelkern an eine solche Teilungsfigur erinnern könnte, halte ich für degenerativ verändert. Vielmehr vollzieht sich die Teilung, wie Fig. 21 u. 22 zeigt, hier offenbar so, daß die Komponenten des Doppelkernes bei ihrer Teilung nicht nebeneinander, sondern hintereinander zu liegen kommen.

Markieren wir in einem Schema (B 1) wiederum die eine Komponente des Doppelkernes der Mutterzelle schwarz, die andere

weiß, so erhält demnach hier die eine Tochterzelle die beiden weißen, die andere die beiden schwarzen Teilhälften (B2). Damit entfällt aber die Möglichkeit den Doppelkern bei der uns vorliegenden Microsporidie als ein die Autogamie vorbereitendes Diplocaryon aufzufassen. Es handelt sich hier in bezug auf den Doppelkern zwar um eine binucleate Form, aber nicht um eine diploide etwa im Sinne der *Amoeba diploidea* HARTMANN.

Da somit conjugierte Kernteilungen nicht aufgefunden wurden und damit ein relativ leicht nachzuweisendes Indicium der Autogamie völlig fehlt, ist es mir wenig wahrscheinlich, daß ich eine solche etwa vor der Bildung der Schlauchzellen übersehen haben sollte. Vielmehr glaube ich, daß der *Tipula*-Parasit zu jenen Microsporidien zu rechnen sein wird, bei denen nach dem Ausschlüpfen des Keimes aus der Spore ein Befruchtungsvorgang erfolgt.

Vergleiche ich die beschriebenen Rosettenentwicklungsstadien mit Befunden an anderen Microsporidien, so war auf die auffallende Ähnlichkeit der Schlauchzellen am Anfang der Reihe mit den Primärschläuchen von *Glugea anomala* bereits oben hingewiesen worden. Was die Rosetten selber anbetrifft, so sind Bilder von ähnlichem Habitus auch schon im Entwicklungscyclus einiger anderer Formen beschrieben worden. Es ist dies der Fall bei *Thelohania chaetogastris* nach SCHRÖDER (1909), *Thelohania corethrae* nach SCHUBERG und RODRIGUEZ (1915), *Octospora muscae-domesticae* nach CHATTON und KREMPF (1911) und schließlich *Stempellicia magna* nach KUDO (1924). Bei *Octospora muscae-domesticae* und *Stempellicia magna* handelt es sich aber nach der Beschreibung der zitierten Autoren um echte Sporogoniestadien, die durch Simultanfurchung eines vielkernigen Plasmodiums entstehen. Auch SCHRÖDER stellt die bei *Thelohania chaetogastris* beobachteten Rosetten zur Sporogonie, leitet sie aber unseren Befunden entsprechend von relativ kleinen einfach gebauten Zellen ab, die unter Kernteilungen und sukzessiv eintretenden Plasmaeinschnürungen zu Rosetten auswachsen. Eine weitgehende Übereinstimmung in Befund und Deutung besteht zwischen den Ergebnissen von SCHUBERG und RODRIGUEZ an *Thelohania corethrae* und unseren Ermittlungen für den *Tipula*-Parasiten. Denn erstens stellen diese Autoren die Rosettenreihe nicht zur Sporogonie, sondern erblicken in ihr eine Modifikation der Schizogonie, die der Sporogonie vorausgeht. Zweitens leiten sie sie ebenfalls von doppelkernigen Zellen ab, die unter Einschnürung des Plasmas zu Viererkreuzen und Achterrosetten heranwachsen und dabei den Doppelkern bei der Rosettenbildung kontinuierlich bewahren, indem auch hier die

Teilung des Doppelkernes der Plasmaeinschnürung vorausgeht. Im Gegensatz hierzu werden bei *Thelohania chaetogastris* nach SCHRÖDER bei der von ihm zur Sporogonie gestellten Rosettenentwicklung die Zellen nur vorübergehend doppelkernig in Vorbereitung der nächsten Furchungsteilung, die sie wieder in einkernige Stücke zerlegt und auch auf dem Achterrosettenstadium werden die acht Rosettenzellen erst sekundär doppelkernig in Vorbereitung ihrer Sporoblastenumwandlung.

J. Einordnung des Parasiten in das System der Microsporidien.

Für die meisten von der Systematik aufgestellten Gattungen der Microsporidien gilt als entscheidendes Merkmal die Zahl der Sporoblasten, die aus einem Sporonten hervorgehen. Da in unserem Falle der Begriff Sporont und Sporoblast sich deckt, indem kein Anhaltspunkt dafür gefunden wurde, daß mehr als ein Sporoblast von einem Sporonten gebildet wird, muß nach dem herrschenden System der *Tipula*-Parasit zur Gattung *Nosema* gestellt werden. Nach dem Auffinden der Achterrosetten war ich eine Zeitlang im Zweifel gewesen, ob es sich hier nicht um einen Vertreter der Gattung *Stempellia* handelt, für die ja die Produktion bisweilen nur von einer, bisweilen von mehr bis zu acht Sporen aus einem Sporonten charakteristisch ist. Das völlige Fehlen von Sporoblasten- bzw. Sporengruppen, die der Rosettengruppierung entsprechen würden, hat mich jedoch zu der oben vertretenen Auffassung geführt, daß die Rosettenreihe zwar der Sporogonie vorausgeht, aber noch nicht zur eigentlichen Sporogonie selbst zu rechnen ist. Erst nach Lösung des Gruppenzusammenhanges der Rosettenzellen setzt vermutlich die Sporogonie an Abkömmlingen der Rosetten ein. Gegen eine Deutung der Rosetten als Teilungsstadien von Sporonten spricht auch das völlige Fehlen einer die Gruppe umschließenden Hüllsicht der Ausgangszelle, wie sie als Pansporoblastenmembran bei der echten Sporogonie ja oft beschrieben worden ist.

Indem ich also den Parasiten zu der Gattung *Nosema* stelle, tue ich das in dem Bewußtsein, daß dem System der Microsporidien, soweit es lediglich auf den Grad der Teilungsenergie des Sporonten basiert ist, zweifellos etwas Künstliches anhaftet. Bei Aufstellung der Gattung *Octospora* ist übrigens dieses Prinzip bereits durchbrochen worden, indem zu ihr neben einer „typischen“ achtsporigen Art (*Octospora muscae-domesticae*) auch eine einsporige Form (*Octospora monospora*) gestellt worden ist und als entscheidendes Merkmal die Sporengestalt angesehen wird, die aber von der gewöhnlichen Gestalt

der Microsporidiensporen bei weitem nicht so beträchtlich abweicht wie die eigentümlichen Sporenformen, die die Gattungen *Spiromema*, *Toxonema* und *Mrazekia* charakterisieren.

Steht man mit mir auf dem Standpunkt, daß das zurzeit gültige System der Microsporidien, soweit es sich auf die Teilungsenergie des Sporonten gründet, im wesentlichen ein künstliches ist, so wird es nicht überraschen, daß unsere in die Gattung *Nosema* einzuordnende Form in einzelnen Zügen an Vertreter der verschiedensten anderen Microsporidiengattungen erinnert. So entspricht das Bild, das die frische Spore bietet, auffällig dem Verhalten bei *Stempellia magna*. Die Rosettenmodifikation der Schizogonie findet sich ähnlich bei *Thelohania corethrae*. Die den Ausgang der Rosettenentwicklung bildenden schlauchförmigen Zellen lassen sich gut den von mir bei *Glugea anomala* beschriebenen Primärschläuchen vergleichen. Die Sproßkettenbildung doppelkerniger Schizonten weist eine frappante Ähnlichkeit auf mit den von PAILLOT für die Schizontenketten von *Perezia mesnili* und *legeri* gegebenen Figuren. Eine ähnliche Lage des Doppelkernes in der Spore findet sich in Sporenabbildungen, die für die beiden *Perezia*-Arten und für *Octospora muscae-domesticae* veröffentlicht worden sind. Unter anderen Vertretern der Gattung *Nosema* habe ich Doppelkerne als Dauerzustand nur für *Nosema bryozoides* und *Nosema glossiphoniae* angegeben gefunden (SCHRÖDER). Hier zeigen die Sporen mit den beiden polständigen Vakuolen und der zentralen Plasmazone aber ein von den Sporen des *Tipula*-Parasiten gänzlich abweichendes Habitusbild.

Ein besonders charakteristisches Merkmal ist für den *Tipula*-Parasiten in dem zähen Festhalten der Doppelkernigkeit in den verschiedensten Phasen des Entwicklungszyclus gegeben. So konnten wir hier den Doppelkern durch alle Sproßstadien der Schizonten, durch die verschiedenen Phasen der Rosettenentwicklung und vom Sporoblasten bis in die Spore verfolgen. Bei Teilungsstadien von Zellen sahen wir nie die Tochterzellen je eine Komponente des Mutterdoppelkernes erhalten, so daß sie zunächst einkernig wären, sondern vor der Teilung der Mutterzelle wurden bereits beide Komponenten des Doppelkernes durchspalten, so daß jede Tochterzelle von vornherein einen Doppelkern erhält. Ein ähnliches kontinuierliches Bewahren der Doppelkernigkeit habe ich sonst nur in der Beschreibung gefunden, die SCHUBERG und RODRIGUEZ von der Rosettenschizogonie von *Thelohania corethrae* gegeben haben. In der Sporogonie dieser Microsporidie bleibt der Doppelkern aber nicht erhalten. Vielleicht liegen sonst noch bei den *Perezia*-Arten

ähnliche Verhältnisse vor. Bei anderen Formen werden zwar öfters doppelkernige Stadien in der Schizogonie beschrieben (so bei *Nosema bombycis* [OMORI und KUDO], *Thelohania opacita* [KUDO], *Stempellia magna* [KUDO]) oder es wird Doppelkernigkeit vom Sporoblasten ab notiert (z. B. *Octospora muscae-domesticae* nach CHATTON und KREMPF), aber es handelt sich eben nicht um ein kontinuierliches Festhalten der Doppelkernigkeit durch den größten Teil des Entwicklungsganges. Daß der Doppelkern in den von mir beobachteten Stadien des *Tipula*-Parasiten nicht als eine Autogamie vorbereitendes Dilocaryon aufzufassen ist, wurde bereits oben Seite 450 betont. Dort wurde auch schon des genaueren ausgeführt, daß auf das charakteristische Merkmal der Doppelkernigkeit hin die vorliegende Microsporidie zwar als eine binucleate aber nicht als eine diploide Form im Sinne der *Amoeba diploidea* HARTMANN bezeichnet werden kann.

In dankbarer Verehrung für Herrn Geheimrat G. W. MÜLLER, der die Güte hatte, mich auf dieses interessante parasitische Protozoon aufmerksam zu machen und mir persönlich 1913 die Fangstellen der *Tipula*-Larven in Locarno zeigte, würde ich gerne die hier vorliegende neue *Nosema*-Art *mülleri* genannt haben. Doch könnte diese Bezeichnung zu Verwechslungen Anlaß geben, da bereits eine *Thelohania*-Art ihm zu Ehren *mülleri* benannt ist. Ich muß also davon Abstand nehmen, den Parasiten nach dem Entdecker der Tipulideninfektion zu benennen und bezeichne unter Hinweis auf obige Ausführungen die neue *Nosema*-Art als *Nosema binucleatum*.

Nosema binucleatum oder eine ihm nahestehende Form ist übrigens möglicherweise bereits 1897 von LÉGER und HAGENMÜLLER gesehen worden. Wenigstens erwähnen diese Autoren kurz eine Microsporidie, die sich in der Darmwand von *Tipula gigantea* entwickelt. Allerdings soll diese „kystes secondaires“ also Pansporoblasten oder Sporonten besitzen, die bald 4, bald 8, bald n Sporen einschließen — eine Angabe, die zu unseren Befunden in Widerspruch steht. Die Verff. haben damals eine ausführliche Arbeit in Aussicht gestellt, scheinen aber auf jenen *Tipula*-Parasiten nicht wieder zurückgekommen zu sein.

K. *Nosema binucleatum* eine intercellulär wachsende Microsporidie.

Überblicke ich das Ermittelte, so hat sich der *Tipula*-Parasit als eine *Nosema*-Art herausgestellt, die durch das zähe Festhalten der Doppelkernigkeit charakterisiert ist und deren Schizogonie sich außer in Form einer typischen Sproßkettenbildung in einer Modifikation darstellen kann, die zur Rosettenbildung führt. Wohl

gegenüber allen anderen bisher bekannten Microsporidien zeigt der *Tipula*-Parasit eine wichtige Besonderheit, die ihn als besonders interessante Form erscheinen läßt. Es ist dies seine Entwicklung in einem zellenlosen Gewebe in der äußeren Schicht der Darmwand. Während sonst Microsporidien die typischen Zellparasiten sind, die in vielen Fällen eine mächtige Hypertrophie der befallenen Wirtszelle hervorrufen und sich nicht selten mit der Wirtszelle zu jenem eigentümlichen symbiontischen Komplex vereinigen, für den ich 1922 die Bezeichnung Xenon vorgeschlagen habe, haben wir hier eine völlig intercellulär in der Grundsubstanz wachsende Form vor uns. Ihre Cysten sind nicht wie die Cysten von *Glugea anomala* eigentümliche metamorphosierte Wirtszellen und entsprechen auch nicht wie die sog. Cysten von *Nosema lophii* Parasitenkolonien, die innerhalb von Wirtszellen herangewachsen sind, sondern stellen Aufblähungen der zellenfreien Grundsubstanz der Tunica elastico-muscularis des Darmes dar. Als flüssigkeitserfüllte Hohlräume verdienen sie hier selbst im Sinne der pathologischen Anatomie durchaus den Namen Cysten, der für die soeben zum Vergleich herangezogenen Formen, die solide Körper darstellen, nur in übertragenem Sinne gelten kann. Durch die Ansiedlung in der Tunica elastico-muscularis des Mückendarmes nutzt der *Tipula*-Parasit die gleichen günstigen Ernährungsbedingungen aus wie der Malariaparasit, wenn er als Ookinet das Epithel des *Anopheles*-Magens durchbohrt hat und nun in der äußeren Wand des Magens zur Oocyste auswächst. Der Strom der resorbierten Nahrung, der die Darmwand durchsetzt, ermöglicht hier wie dort eine gewaltige Vermehrung der Keimzahl des Parasiten und bietet einen vollgültigen Ersatz für die Leistung der Wirtszelle die sonst als Nahrungsspenderin fungiert.

L. Gesamtpathologie der Erkrankung.

Nachdem in den Abschnitten D, E, G und H versucht worden ist, den Bau und die Entwicklung von *Nosema binucleatum* im einzelnen zu verfolgen, soll nunmehr auf die Beziehungen zum Wirtsgewebe und das Gesamtverhalten der Infektion der *Tipula*-Larve noch genauer eingegangen werden. Im Abschnitt F, der von der Entstehung der jüngsten Cysten handelt, wurde die Auffassung entwickelt, daß die Cysten als Flüssigkeitsvakuolen um Parasitenkeime entstehen, die in die Grundsubstanz des Darmstützgewebes eingedrungen sind. Ich bin dabei zu der Vorstellung gelangt, daß die Grundsubstanz durch Flüssigkeitsabscheidung gewissermaßen zu den Cysten aufgebläht wird. Daß die Cysten auch weiterhin mit Flüssig-

keit gefüllte Hohlräume darstellen, läßt sich erstens mit einer gewissen Wahrscheinlichkeit daraus entnehmen, daß in den Dauerpräparaten der Raum zwischen den Parasiten und der Membran größtenteils leer erscheint. Zweitens aber kann man sich in frischen Flächenpräparaten infizierter Darmstücke durch unmittelbare Beobachtung davon überzeugen, daß in den Cysten zwischen den Sporen gelegene Körnchen die BROWN'sche Molekularbewegung zeigen und auch die Sporen selbst hin- und herschwingen.

Offenbar gelangt ein Strom der von der *Tipula*-Larve resorbierten verflüssigten Nahrung in die Cysten und die Osmose spielt sich so ab, daß die Cystenmembran prall gespannt bleibt. Dabei habe ich den Eindruck, daß die Cystenaufblähung zwar im großen ganzen mit der Zunahme der Keimzahl des Parasiten in den Cysten Hand in Hand geht, daß jedoch kein genauer Parallelismus besteht, sondern daß das Cystenwachstum durch Vermehrung der Flüssigkeit eine Zeitlang oder vielleicht auch periodisch der Vermehrung der Keimzahl in der Cyste vorausseilt und daß erst dann der vergrößerte Hohlraum der Cyste allmählich von der wachsenden Parasitenzahl ausgefüllt wird. Zunächst enthalten die Cysten nur sprossende Schizonten, dann Schizonten und Sporoblasten bzw. Sporen, dann einen Schizontenstammrest, Rosettenentwicklungszellen und eine zunehmende Menge von Sporen und schließlich lediglich reife Sporen. Mit diesen sind die ausgewachsenen Cysten dann dicht vollgepfropft und die Cystenmembran liegt dann der Sporenmasse unmittelbar auf.

Die Cysten, die lediglich reife Sporen enthalten, scheinen dabei aus denjenigen, die neben den Sporen noch membranlose jüngere Entwicklungsstadien aufweisen, nicht immer dadurch entstanden zu sein, daß jene Stadien allmählich sämtlich zu Sporoblasten wurden. Im Abschnitt H war ja an der Hand der Fig. 18, 23 u. 24 auf Taf. 24 bereits verschiedentlich auf Entwicklungsprozesse hingewiesen worden, die einen abnormen Verlauf nehmen. Nach FLEMMING-Fixation habe ich in lediglich Sporen führenden Cysten, die noch Cystenflüssigkeit enthielten, zwischen den Sporen eine Menge kleiner sich mit Safranin rot färbender Kügelchen gefunden. Ich vermute, daß nach Entstehung einer gewissen Sporenmenge in zahlreichen Fällen die restierenden jüngeren Stadien sich nicht weiter entwickeln, sondern unter Bildung jener Kügelchen einem Zerfall unterliegen und resorbiert werden. Ganz zum Schluß schwindet dann auch die Cystenflüssigkeit, so daß die Cystenmembran in der Sporenmasse dicht anliegt.

Aus nicht näher bekannten Gründen kommt es bisweilen zu

einer Loslösung eines großen Teiles der in der Tunica elastico-muscularis des Mitteldarmes entstandenen Cysten und zwar sowohl reifer Cysten wie solcher, die noch jüngere Stadien des Parasiten enthalten. Die losgelösten Cysten fallen dann in die Leibeshöhle und werden mit den Strömungen der Hämolymphe mitgeführt, so daß sie zwischen die Organe und unter anderen auch unter die Haut gelangen. Ist dies der Fall, so können sie besonders an dünneren Stellen der Hypodermis, soweit sie durch Sporenfüllung das Licht weiß reflektieren, durch die Haut als weiße Punkte durchschimmern (vgl. Fig. 2 Taf. 23). Die Infektion der Larve ist dann bei Lupenbetrachtung schon von außen zu erkennen und Fälle solcher Art waren es, die Herrn Geheimrat MÜLLER aufgefallen waren und ihn veranlaßten, mich auf die vermutliche Protozoeninfektion der *Tipula*-Larve aufmerksam zu machen. Ich kann nichts Genaueres darüber sagen, unter welchen Umständen es zur Ablösung der Cysten von der Darmwand und ihrer Verstreuung im Larvenkörper kommt. Soviel ist sicher, daß es nicht immer nur Larven, die kurz vor dem Absterben stehen, sind, bei denen diese Erscheinung stattfindet. Auch wurde dieselbe nicht nur im Frühjahr und kurz vor der Verpuppung, sondern an im Aquarium gehaltenen Larven gelegentlich auch im Frühwinter beobachtet stets aber nur an einzelnen Exemplaren (vgl. Fig. 2 Taf. 23).

In solchen Fällen kommt es dann bei einem Teil der Cysten zu einem Zerreißen der Cystenmembran, so daß die Sporen frei in die Hämolymphe geraten. Hier werden sie von Phagocyten aufgenommen, die sich in Menge um ausgetretene Sporen ansammeln. Die Phagocytose ist gut an dem in Fig. 33 Taf. 25 abgebildeten mit FLEMMING'scher Flüssigkeit konservierten Präparat zu erkennen. Die Kerne der Phagocyten (k) sind mit Saffranin rot, ihr Plasma durch Lichtgrün grün gefärbt. Die Sporen von *Nosema binucleatum* sind durch die Osmierung braun gefärbt. Sie sind zum größten Teil bereits in das Plasma der Phagocyten aufgenommen (s). Oben rechts sieht man in der abgebildeten Gruppe außerhalb eines Phagocyten noch eine freiliegende Spore (i). Ob die Sporen nur als Fremdkörper von den Phagocyten aufgenommen und verschleppt oder ob sie in den Phagocyten zerstört werden, vermag ich nicht zu sagen.

Über Phagocytose bei Microsporidienerkrankungen liegen bereits einige Beobachtungen vor. So wurde von mir selbst (1913) der Einbruch von Phagocyten in die Cysten von *Glugea anomala* beschrieben. Ähnliche Beobachtungen haben MRÁZEK und ich bei

Nosema lophii gemacht im Gegensatz zu DOFLEIN, der die Phagocytenschale um die Cysten mit einer Infektion von Bindegewebszellen durch die Microsporidien („diffuse Infiltration“) verwechselt hat. In neuerer Zeit hat ferner KUDO (1921) darauf aufmerksam gemacht, daß Sporen von *Nosema baetis* durch Blutzellen der befallenen Ephemeridennymphen phagocytiert werden. Aus der Arbeit von KUDO entnehme ich, daß ähnliche Beobachtungen auch schon früher für *Nosema bombycis* durch SASAKI (1897) und bei einer durch *Glugea laverani* bedingten Microsporidieninfektion von Polychäten durch CAULLERY und MESNIL 1899 gemacht worden sind.

Kehre ich zu der *Nosema*-Erkrankung der *Tipula*-Larve zurück, so geht ihre Harmlosigkeit schon daraus hervor, daß in den Südalpen der Prozentsatz der befallenen Tiere ein außerordentlich hoher ist. In Locarno habe ich im Herbst 1913 unter etwa 100 gesammelten Exemplaren überhaupt keine infektionsfreie Larve gefunden. Sterben Larven aus anderen Gründen, so werden aus dem zerfallenden Körper die Sporen ins Wasser und auf die den anderen Larven zur Nahrung dienenden Blättern gelangen. Aller Wahrscheinlichkeit nach werden die Parasitenkeime als Sporen mit den Blättern verschluckt. Vermutlich schlüpfen die Keime im Mitteldarm aus den Sporen aus und gelangen unter Durchwanderung des Epithels in die Tunica elastico-muscularis, deren Grundsubstanz sich dann um den Parasitenkeim zur Cyste umwandelt. Das ganz verschiedene Alter der Cysten — beurteilt nach Größe und Inhalt derselben —, das man bei einem und demselben Exemplar antreffen kann, spricht für das wiederholte Eintreten von Infektionen. Eine besonders günstige Gelegenheit für wiederholten Eintritt von Infektionen muß das Halten einer größeren Anzahl von Larven in einem kleinen Aquarium bieten, wenn die Reste abgestorbener Exemplare absichtlich nicht entfernt werden. In der Tat findet man unter diesen Bedingungen nach einigen Wochen den Mitteldarm der Larven über und über mit Cysten verschiedenen Alters besät.

Ein Übergang der Infektion bei der Verpuppung von der Larve in die Imago ist mir sehr wahrscheinlich. Ein solcher ist auch schon für andere Microsporidienerkrankungen von Mücken vermutet worden, so für *Stempellia magna* bei *Culex pipiens* durch KUDO (1921). Auch für *Thelohania legeri* HESSE (= *Th. illinoisensis* KUDO 1921), einen Parasiten von *Anopheles*-Larven, haben HESSE (1904) und KUDO (1921) die gleiche Ansicht ausgesprochen. In dem *Tipula*-Fall habe ich für *gigantea* den vermuteten Übergang noch nicht unmittelbar nachprüfen können, da ich die Larven bisher nicht bis zur vollendeten

Metamorphose gehalten habe. Für die Richtigkeit meiner Annahme spricht jedoch der Umstand, daß ich bei der Untersuchung von Stichproben gleich bei der ersten systematisch nicht näher bestimmten Tipulidenimago, die mir in Thüringen zuflog, im Zupfpräparat des Abdomens Microsporidiensporen von ganz ähnlichem Habitus, wie ihn die Sporen von *Nosema binucleatum* zeigen, auffinden konnte.¹⁾ Zur Erhärtung meiner Ansicht wäre es insbesondere wichtig, Imagines von *Tipula gigantea* aus der Südschweiz zu untersuchen. Ist meine Ansicht richtig, daß dieselben größtenteils durch *Nosema binucleatum* infiziert sind und gehen die Weibchen nach dem Eierlegen in der Nähe der Fundstellen der Larven zu grunde, so würde auch von den Imagines aus der Kreislauf der Infektion geschlossen sein, da dann die jungen Larven Sporen durch den Darm aufnehmen könnten, die von Muttertieren stammen.

II. Microsporidien aus *Tipula lateralis*.

Thelohania tipulae n. sp.

Neben der Untersuchung von *Tipula gigantea* habe ich auch noch bei der Larve von *Tipula lateralis*, einer kleineren Tipulidenform, einige Beobachtungen über das Vorkommen von Microsporidien machen können. So habe ich erstens in einem Exemplar unter acht Larven, die ich Ende Juni 1915 in dem halbtrockenen Flußbett der Prosna bei Kalisch in Polen unter Steinen in der Nähe von Kräutern gesammelt habe, am Mitteldarm einen Cysten bildenden Parasiten gefunden, der *Nosema binucleatum* nahe steht oder mit ihm sogar identisch ist. Die Cysten sitzen ebenfalls in der Tunica elastico-muscularis des Darmes, allerdings etwas oralwärts von den Blindschläuchen des Mitteldarmes, während bei *Tipula gigantea* die Gürtelzone unmittelbar kaudalwärts der Blindschläuche die Prä-dilektionsstelle ist. Der Durchmesser der Cysten, die größtenteils reife Sporen enthalten, beträgt etwa 100 μ . Die Sporen haben etwa die gleiche Länge wie die Sporen von *Nosema binucleatum* aus *Tipula gigantea*. Ihr Reifegrad ist schon zu weit fortgeschritten, als daß

¹⁾ Bei der Tipulide *Fachyrhina pratensis* sind übrigens bereits von LEYDIG (1863) und MONIEZ (1887) bei Imagines Microsporidiensporen aufgefunden worden. Es handelt sich um die von MONIEZ als *Nosema stricta* bezeichnete Form. Von KUDO (1924) wird sie unter den unvollständig untersuchten Arten aufgeführt, für die es unsicher ist, zu welcher Gattung sie zu rechnen sind.

sich die Kernverhältnisse in ihnen noch mit Sicherheit beurteilen ließen. Für den Anschluß an *Nosema binucleatum* spricht aber das Verhalten der Schizonten, die sich in der Rindenschicht einer Cyste auffinden ließen. Dieselben sehen den Schizonten von *Nosema binucleatum* aus *Tipula gigantea* ganz ähnlich. Insbesondere weisen sie auch den charakteristischen Doppelkern auf.

Ein zweiter Microsporidienbefund in der Larve von *Tipula lateralis* bezieht sich auf einen ganz andersartigen und wie es scheint nur selten auftretenden Parasiten. Es handelt sich hier um eine *Thelohania*-Art, die als Zellparasit den Fettkörper befällt. Die Infektion kam nur bei einer einzigen Larve zur Beobachtung. Das erkrankte Exemplar erhielt ich im April 1913 aus Greifswald durch Herrn Geheimrat G. W. MÜLLER zugesandt, dem bei der Sektion der Larve ein großer kreideweißer Lappen in der Leibeshöhle aufgefallen war. Herr Geheimrat MÜLLER schickte mir erstens den lappigen Tumor, der eine sattelartig gebogene Gestalt und eine Länge von 9 und eine Breite von 3 mm hatte, und zweitens das Schwanzende der Larve beides in Formalin konserviert.

Zupfpräparat des Tumors ergaben den typischen Befund einer *Thelohania*. In großer Menge ließen sich Sporengruppen nachweisen, die regelmäßig aus acht Sporen bestanden. Die Sporen, die eine ovale Form aufwiesen, waren auf engsten Raum zusammengefügt und hingen meist mit den Langseiten zusammen. Die meisten Sporengruppen ließen im Zupfpräparat eine Hüllmembran vermissen (Fig. 31 a auf Taf. 24). Doch waren sie offenbar nur aus der Pansporoblastenmembran herausgefallen. Denn neben den Sporengruppen fanden sich leere Hüllen, die noch die Nischen erkennen ließen, in denen die Sporen gesessen hatten (Fig. 31 b). Während der Durchmesser der Pansporoblasten 7,5—9 μ betrug, sind die Dimensionen der Spore durchschnittlich auf $5 \times 3 \mu$ anzugeben.

Die Gestalt der Spore ist, wie Fig. 32 Taf. 24 zeigt, eine ovale, wobei der eine Pol deutlich stumpfer erscheint als der andere. Man kann die Sporen daher auch als annähernd birnförmig bezeichnen. Frische Sporen habe ich nicht untersuchen können. Das Bild der ungefärbten mit Formalin konservierten Spore in Wasser ist an zwei Exemplaren in Fig. 32 dargestellt. Die obere Spore ist bei hoher, die untere bei tiefer Einstellung der Mikrometerschraube gezeichnet. Die starke Lichtbrechung, die die Sporenhülle und das Sporoplasma zeigt, bewirkt, daß diese Gebilde bei hoher Einstellung heller, bei tiefer dunkler erscheinen als das umgebende Medium und ebenso je nach der Einstellung heller oder dunkler

als ein Spaltraum, der sich zwischen Sporoplasma und Sporenhülle findet. Das Sporoplasma, das keine Vakuolen einschließt, ist von ovaler Gestalt und steht mit dem spitzen Pol der Sporenhülle durch einen den hier erweiterten Spaltraum durchsetzenden Strang in Verbindung. Die Sporenhülle ist, wie man sieht, von beträchtlicher Dicke. Dem entspricht auch der Umstand, daß die reifen Sporen sich mit Hämatoxylin oder nach BIONDI nur schlecht finden lassen. Eine diffuse Färbung mit Safranin gelingt leicht (vgl. Fig. 35, 37, 38 Taf. 25). Da differenzierte Sporenfärbungen nicht gelangen, so kann ich über das Verhalten des Kernapparates nichts aussagen.

Auf Schnitten ließ sich ohne weiteres feststellen, daß der Tumortalten einen Fettkörperlappen darstellt, dessen Zellen auf das dichteste mit den Sporengruppen vollgepfropft sind und unter dem Einfluß des Zellparasiten eine mächtige Hypertrophie erfahren haben. Der Fettkörper des Schwanzendes, der zum größten Teil vor der Infektion frei war, ermöglichte dabei den Größenvergleich der nicht befallenen und der hypertrophischen Zellen. In Fig. 34 u. 36 sind bei schwacher und bei mittlerer Vergrößerung Durchschnitte durch nichtinfizierte Fettkörperlappen abgebildet. Fig. 35 u. 37 zeigen daneben bei den gleichen Vergrößerungen die mächtige Hypertrophie, die die befallenen Zellen erfahren haben. Während ihr Durchmesser vor der Infektion etwa 22μ beträgt, haben die Fettzellen nunmehr Flächendimensionen von $90 \times 80 \mu$ erreicht. Die Parasiten haben in ihnen durch Safranin größtenteils eine rote Färbung angenommen. Soweit sie sich ab und zu durch Hämatoxylin blau gefärbt haben, handelt es sich wahrscheinlich um Gruppen noch nicht reifer Sporen. Zwischen den Sporengruppen erkennt man die hypertrophischen Kerne (k) der Fettzellen, die teils, wie Fig. 37 zeigt, prall bläschenförmig, teils wie in Fig. 38 bei noch stärkerer Vergrößerung dargestellt ist, offenbar sekundär geschrumpft sind. Plasma tritt zwischen den Sporengruppen bei der angewandten Färbung nicht hervor. Wahrscheinlich ist es auch bereits größtenteils geschwunden. Eine Zellmembran ist deutlich nachweisbar. Die zarten Pansporoblastenhüllen sind im Schnitt auch bei der stärkeren Vergrößerung von Fig. 38 nicht zu erkennen. Sehr deutlich aber sieht man die Gruppierung der Sporen in Paketen von je acht Elementen.

Die befallenen Zellen sind öfters doppelkernig, bisweilen, wie Fig. 37 zeigt, sogar mehrkernig. Doch kommt dies auch, wie Fig. 36 beweist, schon bei nichtinfizierten Fettzellen ab und zu vor.

Vergleiche ich die erhaltenen Befunde mit Angaben in der Literatur, so sind Fettkörpermicrosporidien ja bereits in großer

Zahl für verschiedene Gruppen von Wirtstieren (Crustaceen, Lepidopteren, Coleopteren, Orthopteren, Archipteren und besonders auch für Dipteren) und als Repräsentanten der verschiedensten Gattungen bekannt geworden. So kennt man als Fettzellparasiten Vertreter der Gattung *Nosema*, *Perezia*, *Gurlega*, *Plistophora*, *Stempellia*, *Cocconema*, *Telomyxa* und, was uns hier besonders interessiert, auch eine ganze Anzahl von *Thelohania*-Arten. Aus der Monographie von KUDO (1924) konnte ich zusammenstellen, daß bis 1924 17 *Thelohania*-Arten als Fettzellparasiten beschrieben worden sind und davon 13 Arten für Mücken, und zwar für die Larven von *Culex*, *Anopheles*, *Simulium*; *Tanypus*, *Limnophilus*, *Aedes*. Für eine ganze Anzahl dieser Formen wird angegeben, daß ihre Herde im Fettkörper als Tumoren imponieren können. Ausdrückliche Hinweise auf die Hypertrophie der befallenen Fettzellen finde ich in den Arbeiten von DEBAISIEUX (1913) über den *Simulium*-Parasiten *Thelohania varians* von KUDO (1923) über den Ephemeridenparasiten *Thelohania baetica* und von SCHRÖDER (1914) über *Thelohania acuta*, eine im Fettkörper von Cyclops schmarotzende Form. Von nicht zu der Gattung *Thelohania* gehörigen Fettzellparasiten ist eine Hypertrophie der befallenen Fettzellen für *Nosema baetis* einen Ephemeridenparasiten und für *Stempellia magna* aus *Culex*-Larven durch KUDO (1921) beschrieben worden.

Von den *Thelohania*-Arten, die als Mückenparasiten beschrieben worden sind, haben, soweit ich sehe, nur einige in *Anopheles*-Larven gefundene Formen annähernd die gleiche Sporengröße wie die *Thelohania* aus *Tipula lateralis*. Es sind dies *Thelohania legeri* HESSE 1904 und *Thelohania obesa* und *pyriformis* KUDO 1924. Da im allgemeinen die Microsporidien spezifisch an ihre Wirtstiere angepaßt zu sein scheinen, so ist es nicht wahrscheinlich, daß die gleiche Form zwei so verschiedenartige Wirtstiere befallen sollte, wie es *Anopheles*- und Tipulidenlarven sind. Somit wird es sich bei der *Thelohania* aus *Tipula lateralis* wohl um eine nicht beschriebene Form handeln. Ich benenne die neue Art *Thelohania tipulae*. Der Vollständigkeit halber sei erwähnt, daß von einer anderen Tipulide *Pachyrhina pratensis* von MONIEZ 1887 die Sporen einer Microsporidie sowohl aus Larven wie aus Imagines unter dem Namen *Nosema stricta* beschrieben worden sind. MONIEZ hielt diese Form, die von KUDO (1924) mit Recht unter den ungenügend bekannten Arten aufgeführt wird, deren Gattungszugehörigkeit nicht feststeht, für identisch mit einer bereits von LEYDIG 1863 im Fettkörper der Imago jener Tipulide aufgefundenen Art. Da von MONIEZ nur die

Dimensionen der Sporen $5 \times 1,5 \mu$) angegeben worden sind, eine weitere Beschreibung aber fehlt, die Angaben von LEYDIG aber noch unbestimmter sind, so läßt sich über etwaige Beziehungen zu den von uns beschriebenen Tipulidenmicrosporidien, insbesondere zu der im Fettkörper von *Tipula lateralis* aufgefundenen *Thelohania* nichts aussagen.

Zusammenfassung.

I.

In der zellenlosen Grundsubstanz der Tunica elastico-muscularis des Mitteldarmes von *Tipula gigantea* bildet eine Microsporidie echte Cysten. Diese stellen durch eine homogene Membran abgegrenzte mit Flüssigkeit gefüllte Blasen dar, in denen zahlreiche Keime des Parasiten flottieren.

Die jüngsten Cysten entstehen wahrscheinlich so, daß sich um einen Keim des Parasiten, der in die Grundsubstanz der Tunica elastico-muscularis gedrungen ist, eine Flüssigkeitsansammlung und um diese die Cystenmembran bildet. Innerhalb des Cystenbläschens vermehrt sich dann der Parasit und gleichzeitig bläht sich unter Diffusion von Nahrungssäften das Cystenbläschen immer mehr auf.

Es handelt sich um eine zur Gattung *Nosema* zu stellende neue Art: *Nosema binucleatum*.

Schizonten, Sporoblasten und Sporen sind durch den kontinuierlichen Besitz eines Doppelkernes ausgezeichnet. Conjugierte Kernteilungen und autogame Kernverschmelzung kamen in dem Teil des Entwicklungskreises, der sich in den Cysten abspielt und der allein Gegenstand der Untersuchung war, nicht zur Beobachtung.

Die Schizogonie verläuft im jungen Cysten unter Bildung typischer Sproßketten, in älteren Cysten unter Ausbildung von Rosetten. Die Sporenlänge variiert stark. Kleine Sporen sind wahrscheinlich von Abkömmlingen der Rosettenreihe, große von den Produkten der Schizontensproßketten abzuleiten.

Der Mitteldarm einer Larve kann mit über tausend Cysten bedeckt sein, die verschiedenen Infektionsperioden entstammen.

Bisweilen lösen sich die Cysten von der Darmwand ab und werden mit der Hämolymphe zwischen die Organe und unter die Haut geschwemmt.

Sporen, die nach Zerreißen der Cystenmembran aus den Cysten ausgetreten sind, werden von Phagocyten aufgenommen.

Die Infektion der Larven von *Tipula gigantea* ist in den Südalpen (Locarno, Bozen) sehr häufig. Wahrscheinlich geht sie auf die Imago über.

Die Entwicklung von *Nosema binucleatum* steht zum Verhalten der übrigen Microsporidien insofern im Gegensatz, als sie sich nicht unmittelbar auf Kosten einer Wirtszelle vollzieht, die Cystenbildung vielmehr in einer zellenlosen Grundsubstanz erfolgt.

II.

In einer Larve von *Tipula lateralis* wurde eine neue *Thelohania*-Art aufgefunden (*Thelohania tipulae*). Es handelt sich um eine im Fettkörper schmarotzende Form, die eine beträchtliche Hypertrophie der befallenen Fettzellen hervorruft.

Literaturverzeichnis.

- CAULLERY, M. u. MESNIL, F. (1899): Sur la presence de Microsporidies chez les annélides polychètes. C. R. soc. biol. Paris T. 51 p. 791—792.
- CHATTON, E. u. KREMPF, A. (1911): Sur le cycle évolutif et la position systématique des protistes du genre Octosporea FLU, parasites des muscides. Bull. soc. zool. France T. 36 p. 172—179, 2 textfig.
- DEBAISIEUX, P. (1913): Microsporidies parasites des larves de Simulium: *Thelohania varians*. La Cellule T. 30 p. 47—79, 3 pl.
- DEBAISIEUX, P. u. GASTALDI, L. (1919): Les Microsporidies parasites des larves de Simulium. II. La Cellule T. 30 p. 187—213, 3 pl.
- DOFLEIN, F. (1898): Studien zur Naturgeschichte der Protozoen. III. Über Myxosporidien. Zool. Jahrb., Abt. f. Anat., Bd. 11.
- FANTHAM, H. B. u. PORTER, A. (1912): The morphology and life history of *Nosema apis* and the significance of its various stages in the so-called „Isle of Wight“ disease in bees (Microsporidiosis). Ann. Trop. Med. Parasit. Vol. 6 p. 163—195, 3 pl., 1 textfig.
- GERBIG, F. (1913): Über Tipuliden-Larven mit besonderer Berücksichtigung der Respirationsorgane. Zool. Jahrb., Abt. System., Bd. 35 p. 127—184, 2 Taf. 19 Textfig.
- GRASSI, B. (1901): Die Malaria. Studien eines Zoologen. Jena. 2. Aufl.
- HESSE, E. (1904): *Thelohania legeri* n. sp.. Microsporidie nouvelle, parasite des larves d'*Anopheles maculipennis* MEIG. C. R. soc. biol. Paris T. 57 p. 570—571.
- (1904): Sur le développement de *Thelohania legeri* HESSE. C. R. soc. biol. Paris T. 57 p. 571—572, 10 textfig.
- KUDO, R. (1916): Contributions to the study of parasitic Protozoa. I. On the structure and life history of *Nosema bombycis* NÄGELI. Bull. Imper. Seric. Exp. Stat. Tokio Vol. 1 p. 31—51, 2 pl.

- KUDO, R. (1921): Studies on Microsporidia with special reference to those parasitic in mosquitoes. Journ. Morph. Vol. 35 p. 153—193, 5 pl., 1 textfig.
- (1923): Microsporidian parasites of ephemeropterid nymphs. Journ. Paras. Vol. 10 p. 22—24, textfig.
- (1924): A biologic and taxonomic study of the microsporidia. Illinois biological monographs Vol. 9 p. 1—268, 27 pl., 9 textfig.
- (1924a) Studies on microsporidia parasitic in mosquitoes. III. On *Thelohania legeri* HENSE 1904 (= *Th. illinoisensis* KUDO 1921). Arch. f. Protistenk. Bd. 49 p. 147—162, 1 pl., 9 textfig.
- LAZARENKO, T. (1925): Beiträge zur vergleichenden Histologie des Blutes und des Bindegewebes. II. Die morphologische Bedeutung der Blut- und Bindegewebelemente der Insekten. (Experimentelle Untersuchung.) Zeitschr. f. mikr. anat. Forschung Bd. 3 p. 409—499, 44 Textfig.
- LÉGER, L. u. HAGENMÜLLER (1897): Recherches sur les Glugéidées parasites des animaux d'eau douce. C. R. ass. France avanc. sci. T. 26 p. 552—555.
- LEYDIG, F. (1863): Der Parasit in der neuen Krankheit der Seidenraupe noch einmal. Arch. f. Anat., Phys. u. wiss. Med. Jahrg. 1863 p. 186—192.
- MERCIER (1908): Néoplasie du tissu adipeux chez des blattes (*Periplaneta orientalis* L.) parasitées par une microsporidie. Arch. f. Protistenk. Bd. 11 p. 372—381, 1 Taf.
- MONIEZ (1887): Observations pour la revision des microsporidies. C. R. acad. sc. T. 104 p. 1312—1314.
- MRÁZEK, A. (1899): Sporozoenstudien. II. *Glugea lophii* DOFLEIN. Sitz.-Ber. d. böhm. Ges. Wiss. math.-nat. Cl. Prag.
- OMORI, J. (1912): Zur Kenntnis des Pebrineerregers *Nosema bombycis* NÄGELI. Arb. a. d. kais. Gesundheitsamt Bd. 40 p. 108—122, 1 Tafel.
- PAILLOT, A. (1918): Deux microsporidies nouvelles parasites des chenilles de *Pieris brassicae*. C. R. soc. biol. T. 81 p. 66—68, textfig.
- (1918a): *Perezia legeri* nov. sp., microsporidie nouvelle, parasite des chenilles de *Pieris brassicae*. C. R. soc. biol. T. 81 p. 187—189, textfig.
- SASAKI, C. (1897): Report on the studies on Pebrine-disease among Nipponese silk-worms. Tokio.
- SCHRÖDER, O. (1909): *Thelohania chaetogastris*, eine neue in *Chaetogaster diaphanus* GRUTH schmarotzende Microsporidienart. Arch. f. Protistenk. Bd. 14 p. 119—133, 1 Tafel.
- (1914): Beiträge zur Kenntnis einiger Microsporidien. Zool. Anz. Bd. 43 p. 320 bis 327, 7 Textfig.
- SCHUBERG, A. u. RODRIGUEZ, C. (1915): *Thelohania corethrae* n. sp., eine neue Microsporidienart aus *Corethra*-Larven. Arb. a. d. kais. Gesundheitsamt Bd. 50 p. 122—132, 2 Tafeln.
- STEMPELL, W. (1902): Über *Thelohania mülleri* (L. PFR.). Zool. Jahrb., Abt. f. Anat., Bd. 16 p. 235—272, 1 Tafel.
- (1909): Über *Nosema bombycis* NÄGELI. Arch. f. Protistenk. Bd. 16 p. 281—358, 7 Tafeln, 1 Textfig.
- WEISSENBERG, R. (1911): Über Microsporidien aus dem Nervensystem von Fischen (*Glugea lophii* DOFLEIN) und die Hypertrophie der befallenen Ganglienzellen. Arch. f. mikr. Anat. Bd. 78 p. 383—421, 2 Tafeln.

- WEISSENBERG, R. (1913): Beiträge zur Kenntnis des Zeugungskreises der Microsporidien *Glugea anomala* MONIEZ und *hertwigi* WEISSENBERG. Ach. f. mikr. Anat. Bd. 82, Abt. 2, p. 81—163, 4 Tafeln, 6 Textfig.
- (1921): Zur Wirtsgewebsableitung des Plasmakörpers der *Glugea anomala*-Cysten. Arch. f. Protistenk. Bd. 42 p. 400—521, 1 Tafel.
- (1922): Microsporidien, Myxosporidien und Chlamydozoen als Zellparasiten von Fischen. Verh. d. deutsch. Zool. Ges. Bd. 27 p. 41—43.

Tafelerklärung.

Die photographischen Aufnahmen (Fig. 1—3) wurden durch Frll. SCHLEGEL hergestellt, die Ausführung der Zeichnungen der Dauerpräparate verdanke ich wiederum Frau E. SCHULTZ-HENKE.

Tafel 23.

Fig. 1. Zwei junge Herbstlarven von *Tipula gigantea*. Formalinkonservierung. Ansicht der Ventralseite. o Kopfende, k Kiemen, f chitinige Schwanzfortsätze. Vergr. 2,1:1.

Fig. 2. Schwanzende der kleineren Larve von Fig. 1 stärker vergrößert. Ansicht der Ventralseite. k Kiemen, f chitinige Schwanzfortsätze, a Afteröffnung, c Cysten von *Nosema binucleatum* durch die Hypodermis durchschimmernd. Vergr. 9:1.

Fig. 3. Desgl. Ansicht der Dorsalseite schräg von dorsal und kaudal aus gesehen. f chitinige Schwanzfortsätze, die einen sechsstrahligen Stern bilden, st Tracheenmündungen (Stigmen). Vergr. 9:1.

Fig. 4. Auspräparierter Mitteldarm einer ausgewachsenen Larve von *Tipula gigantea*, reichlich infiziert mit Cysten von *Nosema binucleatum* (c). b Blindschläuche des Mitteldarmes, t Trachee, m Faserzüge der Darmmuskulatur. Vergr. etwa 6:1.

Fig. 5. Stück eines Querschnittes durch den Mitteldarm einer ausgewachsenen Larve von *Tipula gigantea* an einer nicht infizierten Stelle. Protokollnummer (13) 160 α , Objekttr. 8, Schnitt 2. Schnittdicke 10 μ . v Cuticula des Darmepithels, d Kern einer Cylinderepithelzelle, z Kern einer Ersatzepithelzelle, e elastische Fasern im Querschnitt, r Ringmuskelfaser längs getroffen, l Längsmuskelfasern quer getroffen, g Grundsubstanz der Tunica elastico-muscularis, w Wanderzellen (Phagocyten), t Trachee quer getroffen. Fixation: FLEMING'sche Flüssigkeit. Färbung: Safranin-Lichtgrün. Vergr. 600:1.

Fig. 6. Querschnitt durch ein stark infiziertes Mitteldarmstück einer ausgewachsenen Larve. (13) 153 α , Obj. 11, Schnitt 2. Schnittdicke 10 μ . d Kern einer Cylinderepithelzelle, z Ersatzepithelzelle, e elastische Fasern im Querschnitt, r Ringmuskelfaser, l Längsmuskelfasern quer getroffen, g Grundsubstanz der Tunica elastico-muscularis. a, b, c Cysten von *Nosema binucleatum*. Fixation: Sublimat-Alkohol nach SCHAUDINN. Färbung: Hämatoxylin-Safranin. Vergr. 367:1.

Fig. 7. Spore von *Nosema binucleatum* mit ausgeschnelltem Polfaden. Frisches Präparat in Kochsalzlösung. Vergr. 1750:1.

Tafel 24.

Fig. 8. Flächenapparat der *Tunica elastico-muscularis* des Mitteldarmes, dessen Epithel durch Abpinseln entfernt ist, von innen gesehen. (13) 270. l Längsmuskelfasern, k Kerne der Längsmuskelfasern, r Ringmuskelnzüge, t Trachee, a, b Cysten von *Nosema binucleatum*. Fixation: FLEMMING'sche Flüssigkeit. Färbung: Safranin-Lichtgrün. Vergr. 125:1.

Fig. 9. Stärkere Vergrößerung eines Stückes des gleichen Präparates. l Längsmuskelfasern, r Ringmuskelnzüge, e elastisches Fasernetz, b Cyste von *Nosema binucleatum*. Um die Cysten in der Zeichnung deutlicher hervortreten zu lassen, ist das elastische Fasernetz und die Ringmuskulatur über den Cysten fortgelassen. Vergr. 367:1.

Fig. 10–30. Entwicklungsstadien von *Nosema binucleatum*. Vergr. 1750:1.

Fig. 10. Sporen frisch in Wasser untersucht.

Fig. 11. Sporen aus einem mit FLEMMING'scher Flüssigkeit konservierten und mit Safranin-Lichtgrün gefärbten Flächenpräparat des Mitteldarmes. (13) 276.

Fig. 12. Aus dem gleichen Präparat. b, c zwei jüngere Sporen, in denen die Kerne deutlich hervortreten.

Fig. 13. Sporen aus einem mit Formalin konservierten und mit Hämatoxylin gefärbten Schnittpräparat. (12) 264 γ .

Fig. 14. Sporen aus einem nach SCHAUDINN (mit Sublimat-Alkohol) konserviertem und mit Hämatoxylin gefärbtem Ausstrich. (13) 210 α .

Fig. 15. Sporoblasten aus einem mit FLEMMING'scher Flüssigkeit konservierten und mit Safranin gefärbtem Schnitt. (13) 152 β .

Fig. 16. Sporoblasten aus einem nach SCHAUDINN konservierten und mit Hämatoxylin gefärbten Flächenpräparat des Mitteldarmes. (13) 308.

Fig. 17. Übergangsstadien zwischen Schizonten und Sporoblasten aus einem mit FLEMMING'scher Flüssigkeit konservierten und mit Safranin-Lichtgrün gefärbten Flächenpräparat des Mitteldarmes. (13) 276.

Fig. 18. Mehrkernige Kugeln (abnorme Schizontenentwicklung) aus einem nach SCHAUDINN konservierten und mit Hämatoxylin gefärbten Flächenpräparat des Mitteldarmes. (13) 253.

Fig. 19. Junge Cyste aus einem Flächenpräparat des Mitteldarmes in frischem Zustande skizziert.

Fig. 20. Das gleiche Präparat nach Konservierung nach SCHAUDINN und Färbung mit Hämatoxylin. (13) 253.

Fig. 21. Schizonten in Sprossung aus Cysten des gleichen Flächenpräparates.

Fig. 22. Schlauchzellen aus einem nach SCHAUDINN konservierten und mit Hämatoxylin gefärbten Flächenpräparat. (13) 308.

Fig. 23 u. 24. Schlauchzellen in Degeneration aus Cysten des gleichen Präparates.

Fig. 25–30. Rosettenentwicklungsreihe aus Flächenpräparaten.

Fig. 25. Fixation nach SCHAUDINN. Färbung: Hämatoxylin. (13) 308.

Fig. 26. Fixation: FLEMMING'sche Flüssigkeit. Färbung: Safranin-Lichtgrün. (13) 270.

Fig. 27 u. 28. Fixation: FLEMMING'sche Flüssigkeit. Färbung: Safranin-Lichtgrün. (13) 276.

Fig. 29. Fixation nach SCHAUDINN. Färbung: Hämatoxylin. (13) 253.

Fig. 30. Fixation: FLEMMING'sche Flüssigkeit. Färbung: Safranin-Lichtgrün. (13) 270.

Fig. 31. a Achtergruppe der Sporen von *Thelohania tipulae*, b leere Pan-sporoblastenhülle aus einem ungefärbten Zupfpräparat des Fettkörpertumors von *Tipula lateralis*. Fixation: Formalin. Vergr. 960:1.

Fig. 32. Zwei Sporen von *Thelohania tipulae* aus dem gleichen Zupfpräparat, die eine bei hoher, die andere bei tiefer Einstellung gezeichnet. Vergr. 1750:1.

Tafel 25.

Fig. 33. Aus einem Phagocytenhaufen einer Larve von *Tipula gigantea*, bei der nach Ablösung von Cysten vom Mitteldarm eine Verschleppung derselben durch die Hämolymphe unter Austritt von Sporen stattgefunden hat. Die Sporen (s) sind größtenteils von den Phagocyten aufgenommen worden. k Kern eines Phagocyten, i freiliegende Spore. Schnittpräparat. Fixation: FLEMMING'sche Flüssigkeit. Färbung: Safranin-Lichtgrün. (13) 157 β_1 . Vergr. 960:1.

Fig. 34–38. Schnitte durch den Fettkörper von *Tipula lateralis*. Formalin-fixation. Färbung: Hämatoxylin-Safranin. Schnittdicke 10 μ .

Fig. 34. Schnitt durch ein nicht infiziertes Stück des Fettkörpers. (13) 177 α . O1, S1. Vergr. 74:1.

Fig. 35. Schnitt durch mit *Thelohania tipulae* infizierte Fettzellen bei der gleichen Vergrößerung dargestellt. (13) 177 γ_5 . O1, S2. Vergr. 74:1.

Fig. 36. Das in Fig. 34 abgebildete Präparat stärker vergrößert. Vergr. 310:1.

Fig. 37. Infizierte Fettzellen desselben Schnittes bei der gleichen Vergrößerung dargestellt. k Kerne der Fettzelle. Vergr. 310:1.

Fig. 38. Schnitt durch eine infizierte Fettzelle. k Kerne der Fettzelle. (13) 177 γ_6 . O1, S2. Vergr. 500:1.

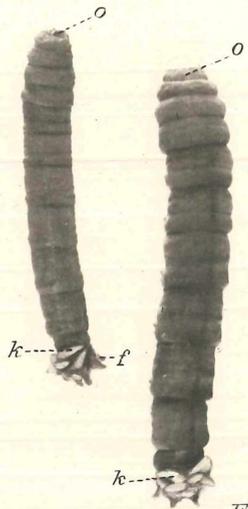


Fig. 1 (21:1)



Fig. 2 (9:1)

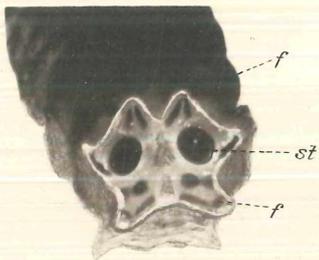


Fig. 3 (9:1)



Fig. 4 (5:1)

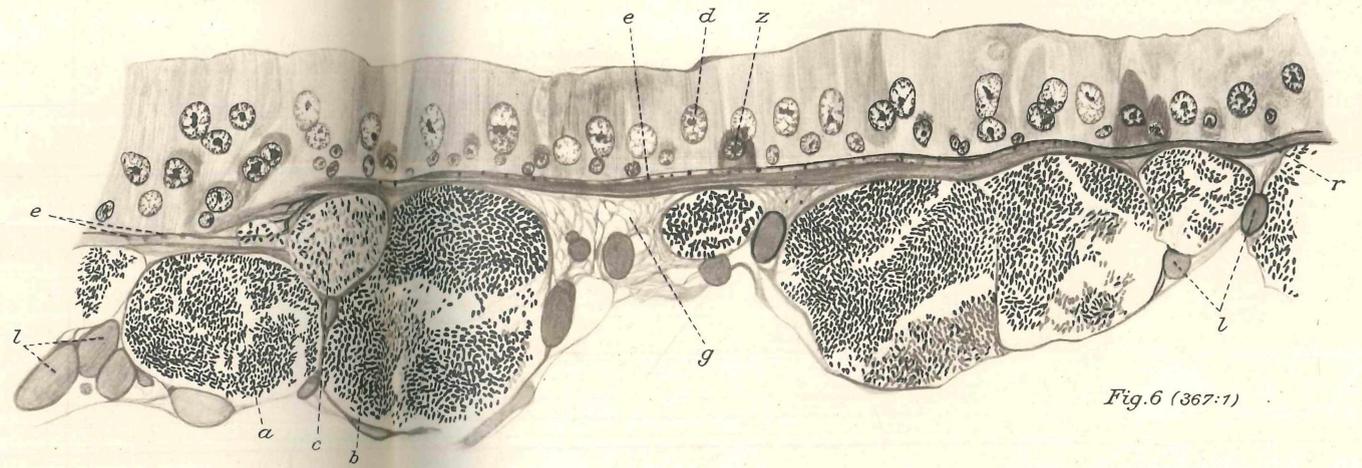


Fig. 6 (367:1)

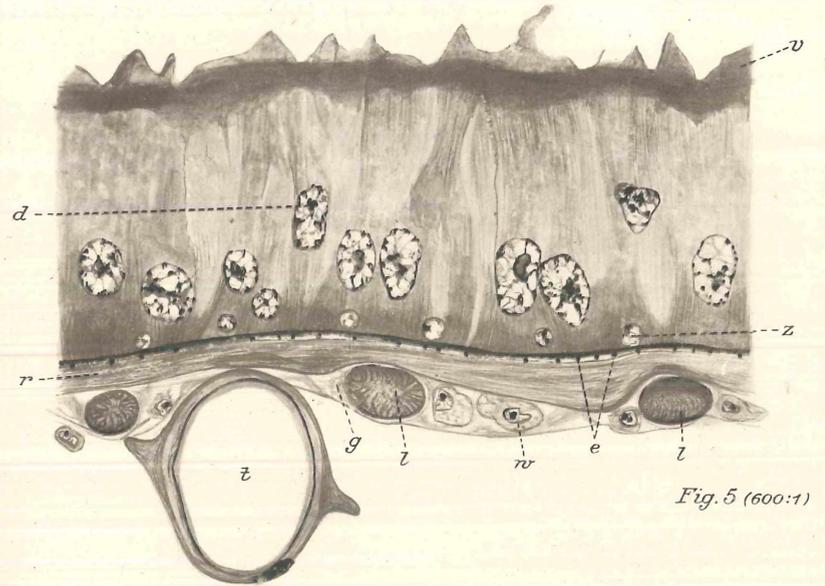


Fig. 5 (600:1)



Fig. 7 (1750:1)

Fig. 1-7. *Nosema biucleatum* und *Tipula gigantea*.

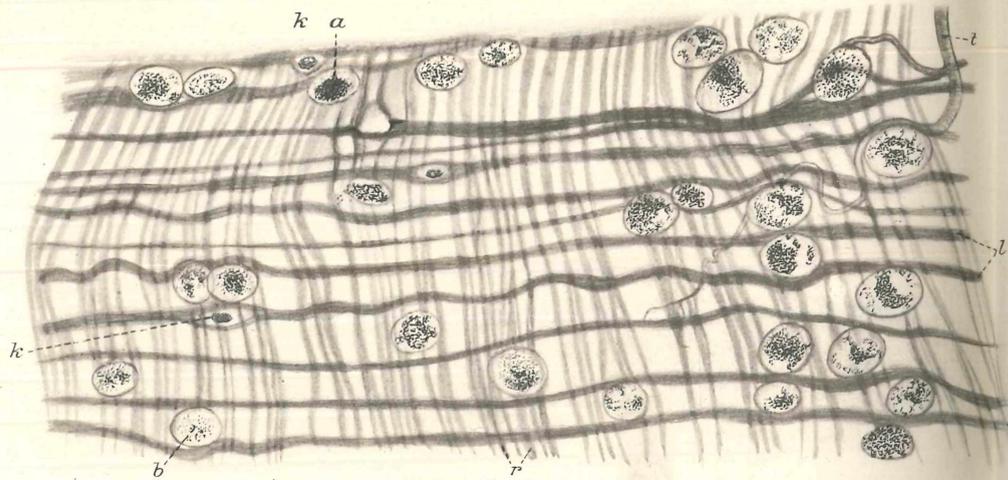


Fig. 8 (125:1)

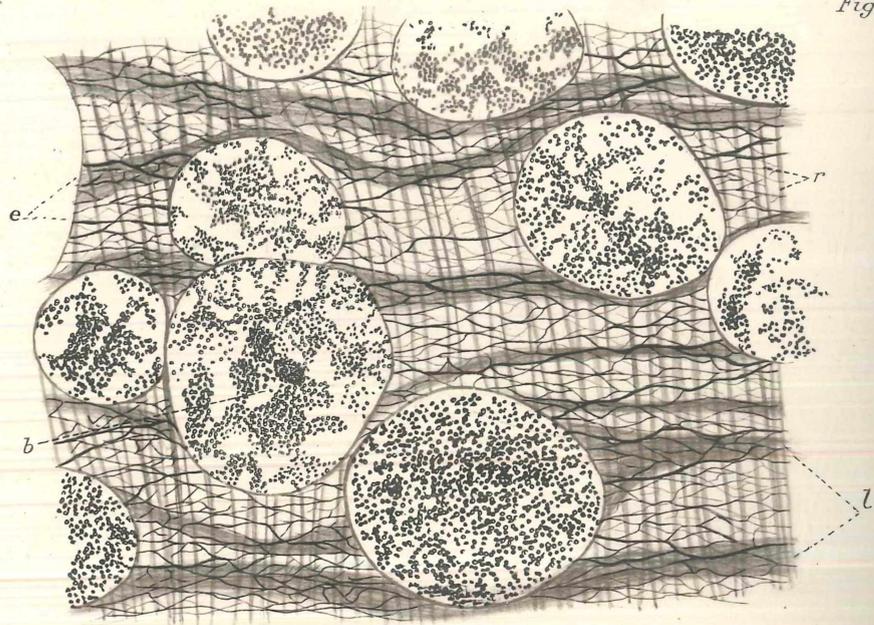
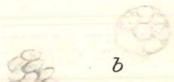


Fig. 9 (367:1)



a Fig. 31 (960:1)



Fig. 32 (1750:1)

Fig. 31-32 Thelohania tipulae.

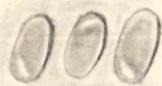


Fig. 10



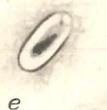
a Fig. 11



b Fig. 12



c Fig. 13



e Fig. 14



f Fig. 15



g Fig. 16



Fig. 17



Fig. 19

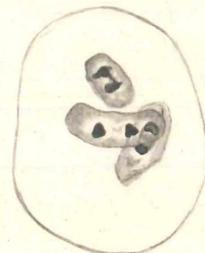
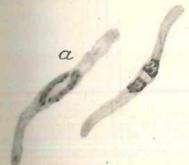


Fig. 20



Fig. 18



a Fig. 23

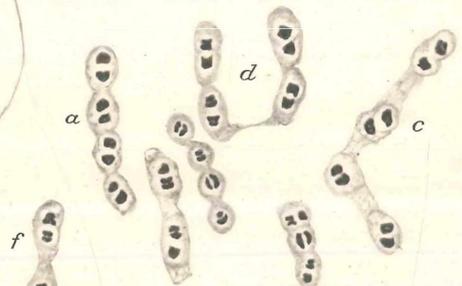


Fig. 21



Fig. 22

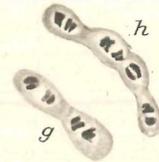


Fig. 24



Fig. 25



Fig. 26

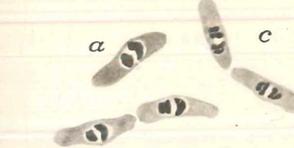


Fig. 27

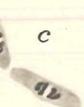


Fig. 28

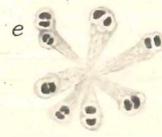


Fig. 29

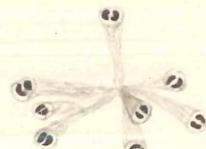


Fig. 30

Fig. 8-30 Nosema biunclatum.

Fig. 10-18, 20-30 Vergr. 1750:1.

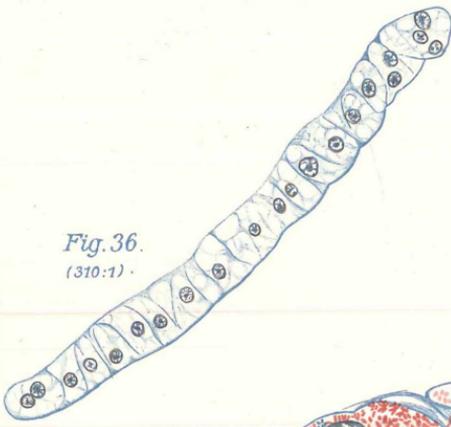
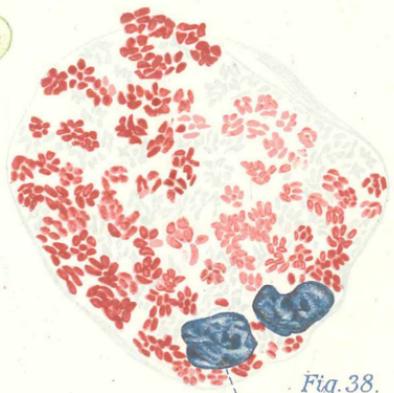
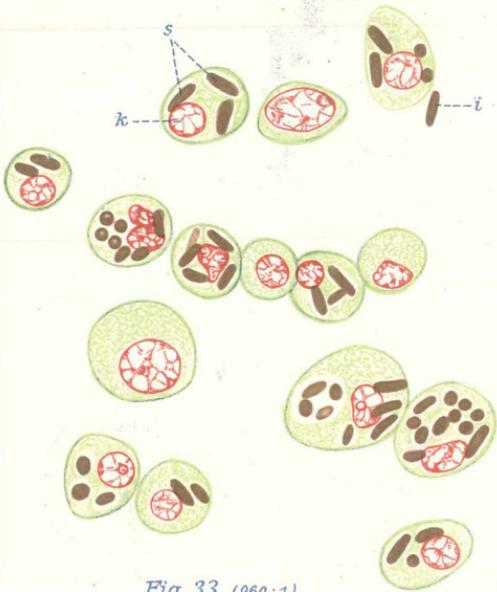


Fig. 33 *Nosema birucleatum*. Fig. 34-38 *Thelophania tipulae*

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: [Archiv für Protistenkunde](#)

Jahr/Year: 1926

Band/Volume: [54_1926](#)

Autor(en)/Author(s): Weissenberg Richard

Artikel/Article: [Microsporidien aus Tipulidenlarven. \(Nosema binucleatum n. sp., Thelohania tipulae n. sp.\) 431-467](#)