

*Nachdruck verboten.*  
*Übersetzungsrecht vorbehalten.*

Aus der Station für Hydrobiologie und Fischerei an den Lnáře-Teichen (Böhmen)  
und aus dem I. Zoologischen Institut der Karls Universität in Prag (ČSR.).

## Über eine neue Microsporidienart (*Glugea acerinae* n. sp.) aus *Acerina cernua*.

Von

**Otto Jirovec.**

(Hierzu 8 Textfiguren und Tafel 15 u. 16.)

---

Ende Dezember 1929 erhielt ich von Herrn Doz. Dr. K. SCHÄFERNA zwei Kaulbarsche, die in der Elbe unweit von Mělník (Böhmen) gefangen wurden. Sie erweckten seine Aufmerksamkeit durch ihre gelbliche Farbe, die er als Folge eines durch Parasiten verursachten Ikterus betrachtete. Bei der Sektion fand er in einem der Kaulbarschen nur zahlreiche junge Distomen (*Tetracotyle* sp.), in dem anderen beobachtete er in der Darmwand überall zahlreiche weiße Pünktchen, die etwa 0,1—0,5 mm groß waren. Er übergab mir die beiden Fische zwecks weiterer Bearbeitung, wofür ich ihm meinen besten Dank ausspreche. An Quetschpräparaten stellte ich fest, daß es sich im zweiten Kaulbarschen um eine Microsporidienart handelte. Da die Microsporidien bei unseren Süßwasserfischen nicht gerade häufig vorkommen, benutzte ich diese Gelegenheit, um unsere Kenntnisse über dieselben zu bereichern. Beim Durchsuchen der Literatur konnte ich feststellen, daß bisher bei *Acerina cernua* keine solche Parasiten beschrieben wurden, so daß es sich um eine ganz neue Spezies handelt. Die Parasiten gehören in die Gattung *Glugea*, da in einem Individium zwei Sporen gebildet werden, und ich gebe ihnen den Namen *Glugea acerinae* n. sp. Diese Arbeit wurde mit

Hilfe und Unterstützung der Station für Hydrobiologie und Fischerei an den Lnáře-Teichen (ČSR.) ausgeführt.

### Technik.

In vivo ließ sich an den Quetschpräparaten nichts besonderes erforschen, man sieht nichts als Sporen, die keine weiteren Details unterscheiden lassen. Die Untersuchungen mußten also zu gefärbten Präparaten Zuflucht nehmen. An Ausstrichpräparaten, die mit Methylalkohol fixiert und nach GIEMSA gefärbt wurden, ließen sich gut die jüngeren Stadien der Sporogonie, sowie auch die ausgeschnellten Polfaden studieren. Der größte Teil dieser Arbeit wurde jedoch an Mikrotomschnitten ausgeführt. Ich fixierte mit bestem Erfolge mit ZENKER sowie mit Formol-FLEMMING nach NAWASCHIN. Für das Studium der feineren Details der Sporenstruktur und der Schizo- und Sporogonie betrug die Schnittdicke  $2\ \mu$ , für das Studium der Beziehungen des Parasiten zum Wirte erwiesen sich  $5\text{--}7\ \mu$  dicke Schnitte für genügend.

Für die Färbung der Schnitte benutzte ich verschiedenste Farbstoffe, je nachdem, was an den Präparaten studiert wurde. Für Übersichtsbilder eigneten sich Färbungen nach DOMINICI, für die Cystenwandstrukturen besonders MALLORY, GIEMSA, für die Sporen, und zwar besonders für ihre Plasmabrücken Azur II.-Eosin, GIEMSA. Für die kleinen Sporenkerne DELAFIELD, GIEMSA; der Rest des Riesenkernes war besonders gut nach DOMINICI, GIEMSA, Triacid zu sehen. Um reife Sporen neben den unreifen und dem anderen Wirtsgewebe gefärbt zu erhalten, färbte ich zunächst mit HEIDENHAIN während 24 Stunden bei  $37^{\circ}\text{C}$ , danach wurde so lange differenziert, bis alles entfärbt und nur noch die Sporen schwarz waren, nach gründlichem Abspülen färbte ich nach, entweder mit MAGENTA-Lichtgrün (nach BORELL<sup>1)</sup>) oder mit MALLORY. Das Resultat war glänzend: die Cysten durch schwarze reife Sporen ausgefüllt, wodurch sich selbst die kleinsten Cysten bei geringer Vergrößerung mühelos auffinden ließen. Im ersten Fall waren die Kerne der minder reifen Sporen und die der Wirtszellen leuchtend rot, das Bindegewebe und die Muskeln grün, im zweiten Falle (nach MALLORY) die nicht reifen Sporen orangefarbig, mit roten Kernen, die Kernkörperchen der Darmzellen orange, die Kerne selbst rot, das Bindegewebe blau.

---

<sup>1)</sup> Ich färbte jedoch statt mit Pikroindigokarmin lieber mit 1 Prozent Lichtgrün nach.

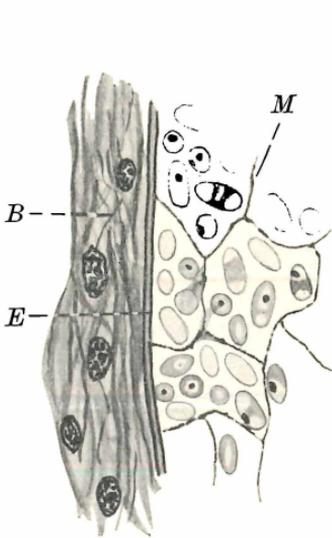
### Eigene Beobachtungen.

An gefärbten Schnitten finden wir die Cysten in ihrer natürlichen Lage. Nach der Färbung mit HEIDENHAIN-MAGENTA-Lichtgrün sind sie besonders leicht erkennbar, da sie durch die intensiv schwarz gefärbten Sporen gegen die helleren Darmzellen scharf kontrastieren (Taf. 16 Fig. 8). Die jüngsten Cysten, die ich gefunden habe, maßen durchschnittlich 20—30  $\mu$ , die älteren 40—60  $\mu$ ; die reifen, 200—350  $\mu$  großen, sind als weiße Pünktchen an der Darmwand schon makroskopisch gut sichtbar. Die Cysten sind hauptsächlich in der *Tunica propria* der Darmzellen eingelagert, doch liegen manche in der *Submucosa* und können bis in die *Muscularis* hineinreichen.

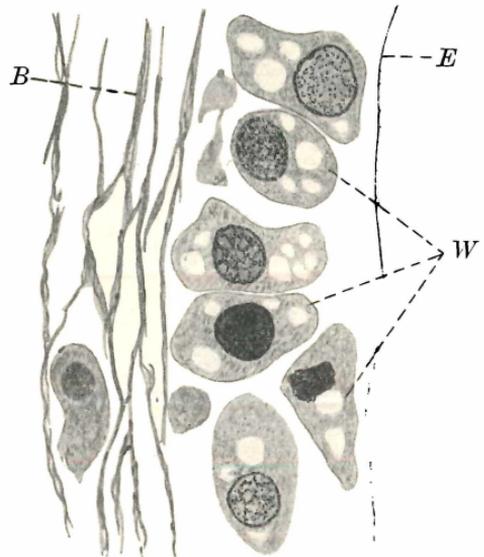
Cystenwand. Die Cyste besitzt eine homogene Cystenwand, die besonders gut an GIEMSA- und MALLORY-Präparaten sichtbar ist (Taf. 16 Fig 6—7). Sie ist nur 0,2—0,5  $\mu$  dick, während sie bei *Glugea anomala* eine Dicke von 2—15  $\mu$  erreicht (STEMPELL (8), WEISSENBERG (12)). Eine parallele Schichtung, die diese beschrieben haben, konnte ich wegen den geringen Ausmaßen der Cystenwand nicht beobachten, ebensowenig irgendwelche Fortsätze in das Cysteninnere, auch keine inneren Konkretionen kommen vor. Diese innere Membran ist außen von der zweiten lockeren, bindegewebigen Hülle umgeben (Textfig. 1), die von den Bindegewebszellen des Wirtes gebildet wird. Sie färbt sich nach MALLORY blau, nach VAN GIESON rot, was für das Vorhandensein der Bindegewebsfibrillen zeugt. In diese Hülle dringen auch Kapillare ein. An dem Mikrophoto Taf. 16 Fig. 7 sehen wir zwei *Glugea*-Cysten, die dicht aneinander gelagert sind und nur durch eine dünne gewebige Membran getrennt sind. An dem Winkel, wo ihre Hüllen zusammentreffen, ist gerade eine Kapillare mit einem Erythrocyten im Schnitt getroffen. Rechts liegt das Darmepithel unmittelbar an den Hüllen. Die primäre eigene Cystenmembran zeigt keine Unterschiede in der Dicke zwischen den jüngeren und älteren Cysten. Die sekundäre Wand scheint mit höherem Alter lockerer zu werden, und es können Wanderzellen in sie eindringen, die sich an der inneren Membran dicht aneinanderreihen (Textfig. 2, Taf. 15 Fig. 2). Ich sah einmal sogar drei solche konzentrische Reihen der Wanderzellen, die nur durch Bindegewebsfasern getrennt waren. Es scheint, daß dies die Phagozyten sind, die später in die Cyste eindringen und dort die Sporen phagozytieren. Der Kern dieser Wanderzellen ist 4—6  $\mu$  groß.

Cysteninhalt. Eine Differenzierung des Cysteninhaltes in Ecto- und in Entoplasma konnte ich niemals beobachten. Die Ansicht von THÉLOHAN, daß die Eigenmembran dem Ectoplasma entspreche, ist übrigens schon lange von STEMPELL widerlegt worden. Die Cyste ist mit den Sporen immer dicht ausgefüllt, die fast keinen Platz für das Plasma der Riesenzellen lassen.

Der Kern der Riesenzelle. Im Inneren der jungen Cysten liegt der verschieden degenerierte Kern der Wirtszelle. Die ältere Meinung von DOFLEIN, STEMPELL u. a., daß die Cyste samt der



Textfig. 1. *Glugea acerinae*. B Bindegewebige Membran. E Eigenmembran der Cyste. M Maschennetz mit Sporen (MALLORY-Färbung, Öl-Imm. 100:1, Comp. Oc. 15:1).



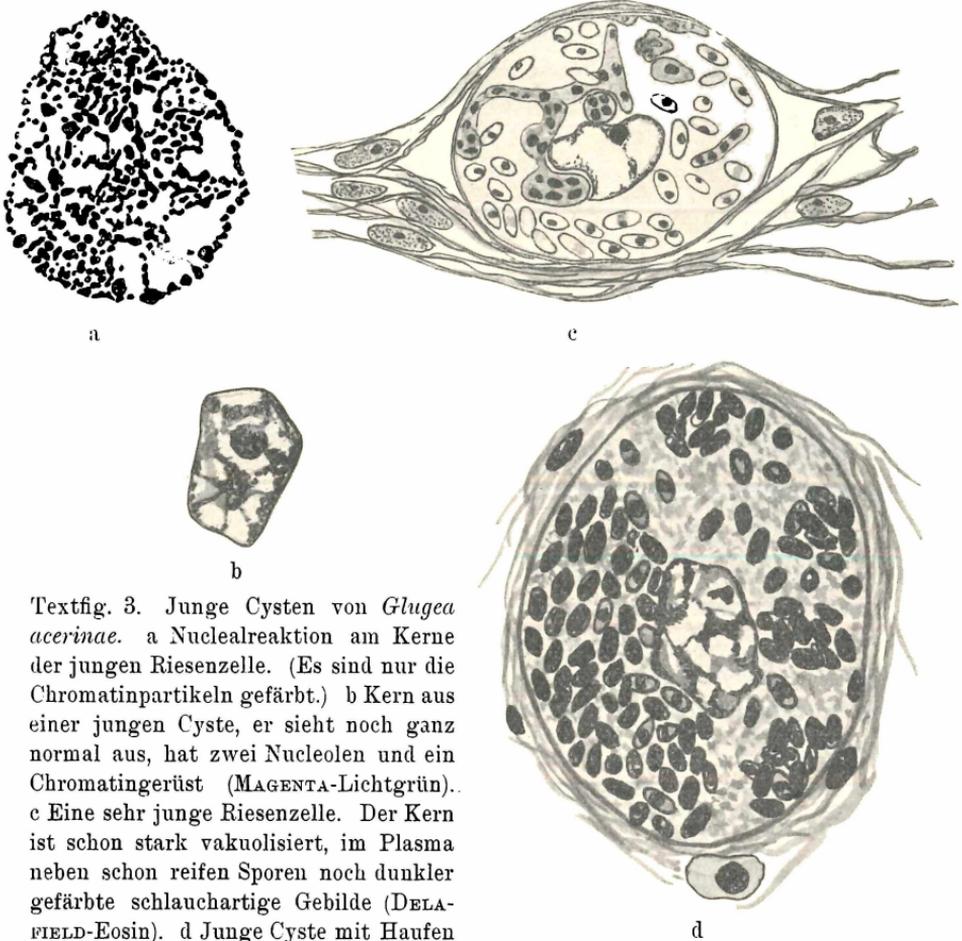
Textfig. 2. In die bindegewebige Membran eingedrungene Wanderzellen (W) (DOMINICI, Vergr. wie Textfig. 1). Bei der Reproduktion auf  $\frac{2}{3}$  verkleinert.

primären Hülle ganz dem Parasiten angehöre, ist heute verlassen. Dagegen die Ansicht von MRÁZEK (5), daß die Cysten eigentlich nur durch die in sie eingedrungenen Microsporidien enorm hypertrophierte Wirtszellen sind (Ganglienzellen bei *Nosema lophii*, Lymphocyten bei *Myxocystis* oder *Mrázekien* aus Würmern), ist neuerdings von WEISSENBERG (13) u. a. bestätigt worden. Durch das Eindringen des Parasiten wird die leucocytenartige Wanderzelle des Wirtes zu einem übermäßigen Wachstum gereizt. Sie sondert sich durch eine eigene Membran gegen die übrigen Wirtszellen ab und wächst zu einer Riesenzelle an, die sogar eine Größe von mehreren Millimetern erreichen kann (*Glugea anomala*). In solchen Riesenzellen<sup>1)</sup> macht die

<sup>1)</sup> Ich benutze also den Terminus Cyste im Sinne Riesenzelle.

Microsporidie ihre Entwicklung durch, teilt sich vielfach und bildet Sporen. Der Kern der Riesenzelle teilt sich gewöhnlich in mehrere und zwar immer amitotisch oder durch Fragmentation.

Bei der *Glugea acerinae* bleibt jedoch der Kern der Riesenzelle (= Cyste) ungeteilt, doch wächst er von der Größe des Wanderzellenkernes von etwa  $4-7\mu$  bis auf  $40-60 \times 30-40\mu$ . In den



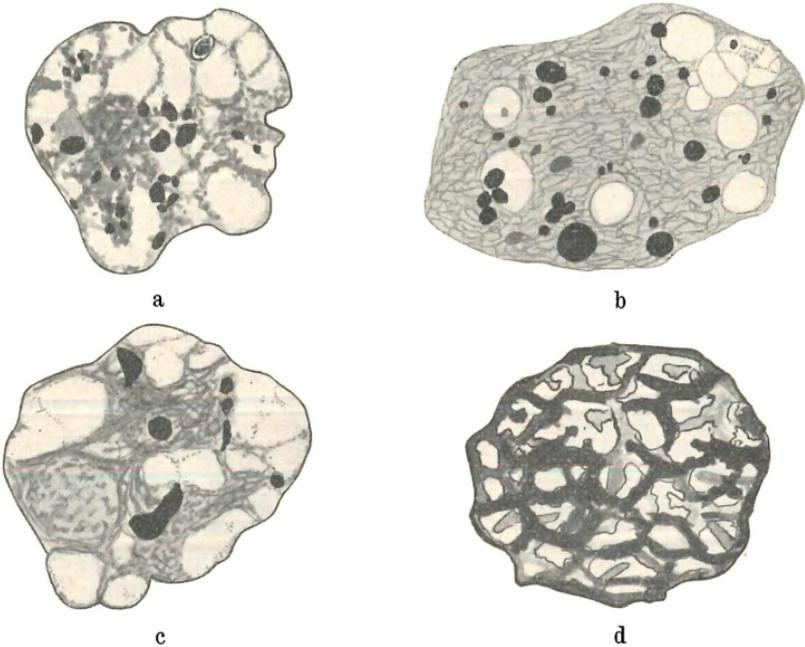
Textfig. 3. Junge Cysten von *Glugea acerinae*. a Nuclealreaktion am Kerne der jungen Riesenzelle. (Es sind nur die Chromatinpartikeln gefärbt.) b Kern aus einer jungen Cyste, er sieht noch ganz normal aus, hat zwei Nucleolen und ein Chromatingerüst (MAGENTA-Lichtgrün). c Eine sehr junge Riesenzelle. Der Kern ist schon stark vakuolisiert, im Plasma neben schon reifen Sporen noch dunkler gefärbte schlauchartige Gebilde (DELA-FIELD-Eosin). d Junge Cyste mit Haufen von reifer Sporen, an der bindegewebigen Membran liegt eine Wanderzelle. Der Kern beginnt bereits zu degenerieren

(HEIDENHAIN-MAGENTA-Lichtgrün).

(Alle Fig. Öl-Imm. 100:1, Comp. Oc. 7:1 an der Basis des Mikroskopes gezeichnet.)

jüngsten Cysten maß er etwa  $15 \times 10\mu$ , und hatte noch ein fast normales Aussehen (Textfig. 3 b, d), eine Kernmembran, Chromatingerüst und 1—2 Kernkörperchen (Textfig. 3 b). Auch behält er seine Färbbarkeit durch Chromatinfarbstoffe; nach DELAFIELD färbt

er sich blau, nach MAGENTA rot. In einigen Cysten war das Plasma in seiner unmittelbaren Nähe dichter und deshalb dunkler gefärbt. Mit steigendem Alter der Cyste wird der Kern immer größer, wasserreicher, wie aufgeschwollen und er ist immer stark vakuolisiert. Die Nucleolen werden in mehr oder minder große Körner verteilt (Textfig. 4 a—c) und degenerieren schließlich, was sich an ihrer schlechteren Färbbarkeit beobachten läßt. Solche Reste von Nucleolensubstanz sehen wir an der Textfig. 4 b, wo sie sich nach Triacid mehr oder minder rot gefärbt haben. Der Kern liegt



Textfig. 4 a—d. Degeneration der Kerne in den älteren Riesenzellen (Cysten von *Glugea acerinae*) (Öl.-Imm. 100:1, Comp. Oc. 7:1). a Beginnende Vakuolisierung, Zerfall der Nucleolen (HEIDENHAIN-MAGENTA-Lichtgrün). b Dicke, dicht aneinandergedrehte Fäden, Nucleolen stark vermehrt (Triacid-Lichtgrün). c Ähnliches Stadium, nur eine noch mehr fortgeschrittene Vakuolisierung (Triacid-Lichtgrün). d Der Kern ist vollständig degeneriert, es bleibt nur noch ein balkenartiges Gerüst übrig (MALLORY). Bei der Reproduktion auf  $\frac{2}{3}$  verkleinert.

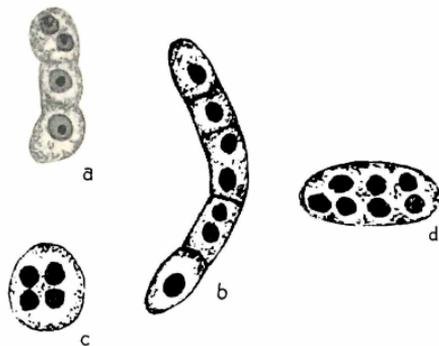
gewöhnlich in der Mitte der Cyste, doch manchmal sah ich ihn ganz an die Peripherie verdrängt. Die große Vakuolisierung beginnt gewöhnlich an einem Pole des Kernes. Die Degeneration zieht sich dann durch den ganzen Kern hindurch. Der Inhalt solcher degenerierten Kerne besteht aus einer fadenartigen Masse (Textfig 4 c, b) die durch große Vakuolen durchsetzt ist. Ob diese dicken Fäden primär, oder erst durch das Gerinnen bei der Fixation entstanden

sind, kann ich nicht unterscheiden. In noch nicht so degenerierten Kernen ist das Chromatin in Form von kleinen Körnchen enthalten, die eine positive Nuclealreaktion geben, d. h. sich nach Hydrolyse mit normalen HCl (bei 60 °C während 5—6 Minuten) in fuchsin-schwefligsaurem Natron (SCHIFFS'schen Reagens) intensiv rot färben (Textfig. 3 a). In völlig degenerierten Kernen ist die Nuclealreaktion nur schwach, die Nucleoproteide sind schon fast verschwunden. Das Endstadium der Kerndegeneration ist in der Textfig. 4 d abgebildet. Man sieht ein balkenförmiges Gerüst, das miteinander anostomosierte und mit Flüssigkeit gefüllt ist. (Vergleiche auch Mikrophoto Taf. 15 Fig. 4—5.)

Durch die immer wachsende Sporenzahl wird der degenerierte Kern immer mehr zusammengedrängt, eingebuchtet, und zwischen seinen einzelnen Lappen liegen dann die dicht aneinandergerepften Sporen, die bis in das Innere des Kernes eindringen können, wohl in der Weise, daß die Kernmembran durch den wachsenden Außen- druck platzt und so den Eintritt der Sporen ermöglicht. Es entsteht so scheinbar eine sekundäre Cyste, die von den Resten des Zellkernes wie von einer Hülle umgeben ist. Endlich verschwindet der Kern vollständig, deshalb finden wir die reifen Cysten nur ganz mit einer Unzahl von Sporen ausgefüllt.

Schizogonie. In jungen Cysten konnte ich die Sporenbildung studieren. Doch sind meine Beobachtungen noch lückenhaft, da mein Material zur Erforschung der ganzen Schizo- und Sporogonie nicht zureichend ist. Die jüngste von mir gefundene Cyste maß  $20 \times 17 \mu$ , ihr Kern war  $6 \mu$  groß. Solche jungen Cysten fand ich besonders in der Magenwand. In der Textfig. 3 c habe ich eine junge Cyste abgebildet ( $30 \times 25 \mu$ ). Sie lag im Bindegewebe der Tunica propria zwischen den Darmzotten, in ihrem Inneren war ein Kern der Riesenzelle, der nur noch aus einer einzigen Vakuole bestand, und nur einen dünnen Wandbelag aus Caryoplasma und einen Nucleolus hatte. Im Plasma dieser Riesenzellencyste lag zwischen den mehr oder weniger reifen Sporen ein schlauchförmiges, stark fingerartig gelapptes Gebilde, das viele Kerne besaß, und an ein Pilzmycellium erinnerte. Im Schnitte sind nun verschiedene Partien dieses Gebildes getroffen, die scheinbar nicht zusammenhängen, doch durch Kombination von aufeinanderfolgenden Schnitten derselben Cyste und durch das Spielen mit der Mikrometerschraube, kam ich zu der Ansicht, daß in den jungen Cysten alle diese Schläuche wenigstens in den ersten Stadien zusammenhängen. An der Mikrophotographie 5 stellen die dunkleren Partien im Plasma der Riesenzelle die stark verzweigten Schläuche dar.

Dieses schlauchförmige Gebilde scheint nun in einzelne Sproßketten zu zerfallen, die man an sehr dünnen Schnitten ( $2\ \mu$ ) gut beobachten kann (Textfig. 5 a—d). Diese von mir beobachteten Sproßketten sind mit den Primär- und Sekundärschläuchen, die WEISSENBERG bei *Glugea anomala* beschrieben hat (11), identisch. Nach ihm wachsen aus einkernigen „Primärzellen“ zuerst 2, dann 4, 8, und endlich 16 kernige „Primärschläuche“. „Sekundäre Schläuche“ sollen durch Verschmelzen zweier kleineren „Primärzellen“ entstehen, deren Kerne jedoch nicht verschmelzen. Diese Sekundärschläuche sind bedeutend dicker als die primären. Analoge Bilder haben auch



Textfig. 5 a—d. Schizontenschläuche in jungen Cysten. Zerfall in einkernige Schizonten. Caryosomkerne (HEIDENHAIN-MAGENTA-Lichtgrün).



Textfig. 6 a—b. Schizontenbildung in älteren Cysten? Große, lappige Gebilde mit zahlreichen, an der Peripherie angeordneten kleinen Kernen (DELAFIELD-Eosin). (Beide Fig. Öl-Imm. 100:1, Comp. Oc. 15:1.)

AWERINZEW u. FERMOR (1) gesehen, nur haben sie ihre Entstehung falsch, nämlich aus Kernsubstanz, gedeutet. Die Kerne können sich auch nicht genau in der Richtung der Längsachse des Schlauches teilen, so daß Schläuche mit Kernen in zwei oder auch mehr Kern-

reihen entstehen können. Die Schläuche umgeben sich mit einer Vakuole, und zerfallen in eine so große Anzahl von Schizonten, als Kerne vorhanden waren. WEISSENBERG (12) nennt diese Schizonten „Vakuolenzellen“. In alten Cysten der *Glugea anomala* entstehen die „Vakuolenzellen“ durch Zerfall von vielkernigen Kugeln, die auch aus einer einkernigen Primärzelle durch Kernteilungen entstanden sind. Jede „Vakuolenzelle“ stellt die Mutterzelle des Sporoblasten vor. Sie teilt sich in zwei kugelige Sporoblasten, die sich in die Länge strecken und sich jeder zu einer Spore umbilden.

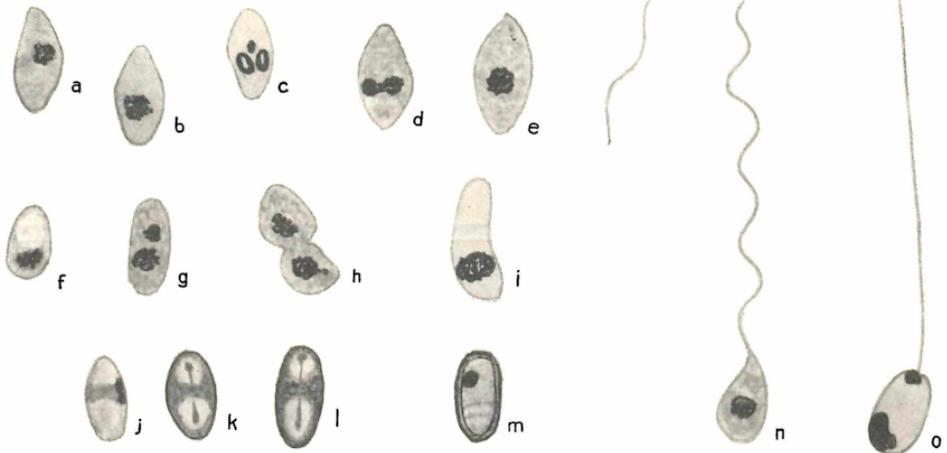
Die *Glugea acerinae* eignet sich nicht für das Studium der Schizo- und Sporogonie. Alle Cysten sind vollgepfropft mit den Sporen, diese liegen dicht aneinandergedrückt und lassen fast keinen Platz für das Plasma der Riesenzelle übrig. Dadurch wird die Beobachtung sehr schwierig. Einkernige, selbständige Primärzellen habe ich nicht beobachtet, doch leugne ich damit ihr eventuelles Vorkommen nicht. Mir kamen zur Beobachtung nur mehrkernige resp. mehrzellige Schläuche. Auch Schläuche mit zwei Reihen der Kerne kamen vor (Textfig. 5 c, d). Natürlich sind im Schnitte die Schläuche in allen möglichen Richtungen getroffen, so daß wir 2-, 3-, 4- usw. kernige Schläuche (Textfig. 5 a, b) oder kugelige Gebilde mit 3, 4, 6 usw. Kernen finden (Textfig. 5 c, d).

Diese Sproßketten (Schläuche) zerfallen nun in einzelne Schizonten, die etwa 2,5—3,5  $\mu$  groß sind und einen kleinen Kern mit Caryosom besitzen. Ihr Plasma hat sich wahrscheinlich durch Schrumpfung an die Wände zurückgezogen. Kernteilungen habe ich in den Schläuchen nicht gefunden. Zweikernige Schizonten (noch in den Sproßketten) teilen sich später in zwei einkernige, die erst in die selbständige einkernige Schizonten zerfallen.

In älteren Cysten beobachtete ich zwischen schon reifen Sporen noch große, lappige Gebilde, mit dunkelgefärbtem Plasma, an deren Peripherie zahlreiche kleine Kerne angereiht waren. Diese Gebilde erinnern an die Bilder WENYON'S von der Schizogonie des *Haemoproteus* aus Sperlingen. Ich möchte diese Gebilde auch für Schizogoniestadien in den alten Cysten auffassen (Textfig. 6 a, b ist nach zwei aufeinanderfolgenden Schnitten gezeichnet. STEPELL bildet auch solche Stadien in seinen Fig. 115, 116 ab) und sie mit dem von WEISSENBERG (12, 13) beschriebenen Entstehungsvorgange der Vakuolenzellen in alten *Glugea anomala*-Cysten vergleichen.

Nur sind bei *Glugea acerinae* die Schizogoniekugeln in alten Cysten recht groß und lappig gebaut.

Sporogonie und Sporen. Die durch Zerfall der Schläuche entstandenen einkernige Schizonten (Textfig. 7 a, b, e) entwickeln sich weiter in Sporen. Ihr Kern teilt sich in zwei Teile (Textfig. 7 c, g, h), nachher folgt die Plasmateilung (Textfig. 7 h). Die unreife Spore bildet die so typischen Vakuolen und eine sehr dicke Membran (Textfig. 7 m), die den Eintritt von Farbstoffen sehr erschwert. Auch der Polfaden ist bereits in der noch nicht reifen Spore angelegt (Textfig. 7 n). In vivo sind die Sporen stark lichtbrechend und anscheinend ganz homogen und lassen keine Details erkennen.



Textfig. 7 a—o. Verschiedene Stadien der Sporenbildung bei *Glugea acerinae* ( $\text{OsO}_4$ -Dampf, GIEMSA, Fig. j—m nach mit HEIDENHAIN-MAGENTA-Lichtgrün gefärbten Schnittpräparaten, Öl.-Imm. 100:1, Comp. Oc. 15:1). a, b, e Schizonten vor der Teilung. c, d, g, h Schizonten während der Teilung. f, j Unreife Sporen. k, l Reife Sporen mit gut sichtbaren durch die beiden Vakuolen reichender Stiftpolfaden. m Reife Spore mit gefärbtem Kern. n Unreife Spore mit ausgeschnehten Polfaden. o Reife Spore mit Polfaden.

Die reifen Sporen messen  $3,5-4,5 \times 2,5-3 \mu$ , und haben, wie schon erwähnt wurde, eine sehr dicke Membran. Im Innern liegen zwei Vakuolen, eine größere und eine kleinere, die durch eine breite Plasmabrücke getrennt sind (Mikrophot. Taf. 15 Fig. 1, Textfig. 7 k, l). Der Polfaden scheint durch die ganze Spore in die beiden Vakuolen zu reichen, was besonders gut an nach HEIDENHAIN gefärbten Schnittpräparaten zu sehen ist. Ich kann somit die Angabe von STEMPPELL, der einen Längsstift in der Spore sah, bestätigen (Textfig. 7 k, l).

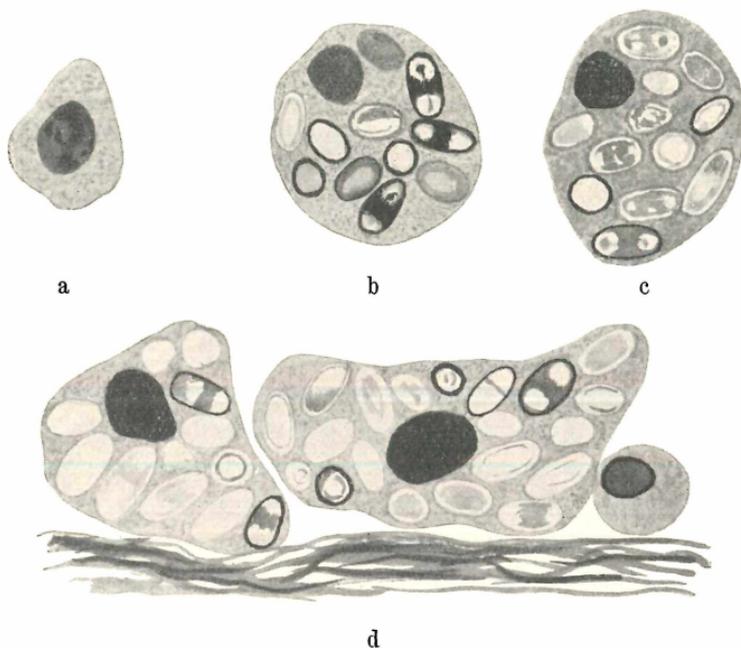
Der Polfaden ist 80—100  $\mu$  lang und wird etwas seitlich vom Pol der Spore ausgestoßen. An meinen Präparaten konnte ich immer nur einen Kern in der reifen Spore sehen. Er liegt in der Plasma-brücke zwischen den beiden Vakuolen und färbt sich typisch mit den Kernfarbstoffen. Auch mit Hilfe der FEULGEN'schen Nuclealreaktion konnte ich an Schnitten in jeder Spore immer nur einen Kern rot gefärbt sehen.

In der Literatur finden wir verschiedene Angaben über die Kernenzahl in der Spore der Microsporidien. STEPELL (8) gibt für *Glugea anomala* vier Kerne an, zwei davon sind Polkapselkerne, zwei gehören dem amöboiden Keimling. Ebenso THÉLOHAN, LÉGER und HESSE, MERCIER, SCHRÖDER u. a. halten die Sporen für mehrkernig. GEORGEVICH nimmt sogar 5—6 Kerne in der Spore an, zwei sollen Kerne der Schale sein, zwei des Keimlings und 1—2 der Polkapsel. Diese Autoren haben die Verhältnisse der Myxosporidien einfach auf die Microsporidien überführt. Dagegen fanden SCHUBERG (7) (bei *Plistophora longifilis*), KUDO, ZWÖLFER (14), WEISSENBERG (12) (bei *Glugea anomala*) u. a. in der Spore nur einen Kern. Die anderen „Kerne“ sollen nur Volutingranulen gewesen sein. Meine Befunde stimmen also mit der Meinung der zweiten Autorengruppe überein. Ich sah immer nur einen einzigen Kern, niemals Volutin oder andere metachromatische Granulen.

In einigen Cysten sah ich, besonders nach der Färbung mit MALLORY oder DELAFIELD, weniger gut nach DOMINICI, eine eigentümliche gitterartige Maschenstruktur. Nach MALLORY färben sich die Wände dieser Maschenstruktur orange, nach DELAFIELD blau, und haben feine Körnchen angelagert, die wohl durch das Gerinnen der Cystenflüssigkeit bei Fixation entstanden sind. Die Maschenweite beträgt durchschnittlich 7—12  $\mu$ , die Maschen selbst sind abgeplattet, dicht aneinandergedrängt und in jeder solchen Masche sind 10—20 Sporen eingelagert (Textfig. 1, Taf. 15 Fig. 3). Solche Maschen hat schon MRÁZEK (5) bei *Nosema lophii* beschrieben, ohne jedoch weiter darauf einzugehen. Außerdem finden wir eine gewisse Ähnlichkeit mit den Sarcosporidien, wo auch der Innenraum der Cyste durch Scheidewände in zahlreiche Kammern geteilt wird, nur sind hier die Wände dicker und die Maschen weiter voneinander entfernt. Ob dieses Gitter bei *Glugea acerinae* erst artefiziell, bei der Fixation der Cysten, oder primär in den älteren Cysten aus den Resten des Plasmas der Riesenzelle entsteht, konnte ich an meinem Material nicht unterscheiden. Für meine Person bin ich nicht geneigt, diese Maschenstruktur für ein Fixationsartefakt auf-

zufassen. Die Sporen verkleinern bei ihrer Reifung ihr Volumen, so daß sich in den alten Cysten mehr Platz findet. Die Reste des Cystenplasmas bilden dann vielleicht das Gittergeflecht.

Phagocytose. Einige Cysten sah ich einer Phagocytose unterliegen. Einen besonders schönen Fall sah ich an einer Schnittserie, die nach MALLORY gefärbt wurde. Die ganze Cyste war birnförmig verlängert, ihr engerer Teil reichte tief in die Muscularis des Darmes. An der Peripherie der Cyste beobachtete ich Reste der ursprünglichen bindegewebigen Membran (Textfig. 8 d). Das Innere



Textfig. 8a—d. Wanderzellen mit phagocytierten Sporen. a Wanderzelle. b, c Wanderzellen (Phagocyten) mit zahlreichen Sporen. d An der Cystenwand liegende Phagocysten. Rechts eine noch keine Sporen enthaltende Wanderzelle (MALLORY, Öl.-Imm. 100 : 1, Comp. Oc. 15 : 1).

der Cyste besteht aus Zellen (Wanderzellen, Phagocyten). Diese sind 10—20  $\mu$  groß, haben ein homogenes Cytoplasma, das nach MALLORY blau gefärbt wird, und einen kleinen, sehr dichten, homogenen Kern, der 3—5  $\mu$  groß ist und sich nach MALLORY braunviolett färbt. Im Innern der Phagocyten finden wir nun zahlreiche, mehr oder minder reife Sporen (10—30 an der Zahl). Die Zählung derselben ist recht schwierig, da sie in mehreren Schichten liegen (Textfig. 8 b, c, d). Phagocytierte reife Sporen bleiben nach MALLORY ungefärbt, noch nicht reife färben sich orange bis rot.

Zwischen solchen, mit Sporen vollgestopften Phagocyten finden wir auch sporenfreie Zellen (Textfig. 8 a), die vielleicht erst später in die Cyste eingedrungen sind, nachdem schon alle Sporen phagocytiert wurden. Freie Sporen kamen in solchen Cysten nicht vor. Solche sporenfreien Zellen, die ich auch für Wanderzellen halte, finde ich auch in der Nähe der *Glugea*-Cysten überall im Darmgewebe des Wirtes. Wir finden mit Sporen vollgestopfte Phagocyten auch außerhalb der zerfallenen Cysten zwischen das Wirtsgewebe eingedrungen. Nach HEIDENHAIN-MAGENTA-Lichtgrün sind die Sporen in den Phagocyten schwarz, der Kern der Phagocyten rot, das Bindegewebe grün gefärbt. Im Kern der Phagocyten beobachtete ich nach dieser Färbung einen schwarzen „nucleolenartigen“ Punkt, doch möchte ich jedoch ihn als Kunstprodukt betrachten, das bei der Differenzierung mittels Ferriammonsulfat entstanden ist.

Zwischen die Phagocyten dringt später das Bindegewebe ein und umgibt sie einzeln oder in Haufen von allen Seiten. Ihr weiteres Schicksal, sowie das der phagocytierten Sporen, konnte ich an meinem Material nicht verfolgen. Auch habe ich keinen Zerfall der phagocytierten Sporen beobachtet.

Analoge Bilder fand MRÁZEK (5) bei *Nosema lophii*, was ich an seinen Präparaten bestätigen kann. Die Wanderzellen dringen dort in die Gangliencyste ein und zerfressen den Rand der Sporenmasse. Einige kriechen auch in das Innere hinein, wo man dann nur noch ihre Kerne durchschimmern sieht. STEPELL (1904) gibt in seiner Arbeit über *Glugea anomala* auch entsprechende Stadien (seine Fig. 49—55), doch faßt er sie als sekundäre Protoplasmakörper der *Glugea anomala* auf, die noch Sporen in sich bilden. WEISSENBURG (1913) erwies dies als Irrtum und beschrieb diese Stadien nicht als „sekundäre Sporulation“, sondern richtig als Phagocytose.

Die reifen Cysten entleeren wahrscheinlich ihren Sporenhalt durch ihr Platzen in das Darmlumen, wo sich dann zwischen den Darmzotten zahlreiche freie Sporen finden. So gelangen die Sporen noch während des Lebens des Wirtes ins Freie und können neue Acerinen infizieren. Ob auch eine Autoinfektion des Fisches stattfindet, konnte ich nicht feststellen; doch ist dies sehr wahrscheinlich. In dem Darmgewebe finden wir auch hier und da Sporenhaufen, vielleicht entstanden sie durch Einschleppung der Sporen durch die Phagocyten. Manche Bilder erinnern an diffuse Infiltration, wie sie von DOFLEIN u. a. beschrieben wurde, doch kann ich darüber nichts Bestimmteres sagen.

### Die Stellung der *Glugea acerinae* n. sp. im System.

Die beschriebenen Parasiten gehören also zu den Microsporidien, und zwar in die Gattung *Glugea*, da aus jedem Schizonten zwei Sporonten entstehen, wofür die Kernteilungen in denselben zeugen.

Bei den Fischen ist bereits eine große Anzahl von Microsporidien gefunden worden (zehn Arten von *Glugea*, elf von *Plistophora*, sechs von *Nosema* und eine Art von *Thélohania*). Die Beschreibung dieser bisher bei Fischen gefundenen Microsporidienarten gibt KUDO (1924) in seiner Monographie der Microsporidien. Sie kommen hauptsächlich bei den Meerestfischen vor, in den Süßwasserfischen sind sie bisher recht selten gefunden worden. Am besten bekannt ist *Glugea anomala* MONIEZ aus *Gasterosteus aculeatus*; sie kommt im subcutanen Bindegewebe, in der Darmwand, Cornea, selten im Ovarium vor und wurde eingehend von STEPELL (1904 a), AWERINZEW u. FERMOR (1911) und neuerdings von WEISSENBERG (1913, 1921) studiert. Die *Glugea acerinae* unterscheidet sich von der *Glugea anomala* erstens durch die Wirtsfischart und zweitens durch den ganz anderen Cystenbau, wie bereits vorher an den betreffenden Stellen hervorgehoben wurde (dünnere Eigenmembran, ein einziger Kern der Riesenzelle, der einer eigenartigen Degeneration unterliegt usw.). Auch die Sporen der neuen Art sind etwas größer als die von *Glugea anomala*, doch variiert die Sporengröße bei den Microsporidien zu viel, um darauf mehr Gewicht legen zu können. Der exakte Beweis der Artverschiedenheit würde erst natürlich durch entsprechende Fütterungsversuche gebracht werden.

Auch mit den von VANEY und CONTE (1901) beschriebenen Parasiten aus *Acerina cernua* hat unser Parasit nichts gemeinsames. Sie fanden nämlich im Darne eines Kaulbarschen runde, 0,15—0,03 mm große Cysten, in den jungen sahen sie „un reliquant plurinuclée“, in den alten war dieser verschwunden. Die Cysten waren vom Bindegewebe umgeben, und ihr Inneres von zahlreichen Sporen erfüllt. Die Sporen maßen  $4 \times 2 \mu$ , hatten zwei Polkapseln und eine schwanzartige Verlängerung am gegenüber gelegenen Pol. Deshalb haben sie diesen Parasiten zu den Henneguyen als *Henneguya tenuis* eingereiht. In demselben Fische fanden sie am Mesenterium noch eine 3 mm große Cyste, ganz mit Sporoblasten oder schon reifen Sporen erfüllt. Diese maßen  $3 \times 2 \mu$ , hatten einen etwa  $15 \mu$  langen Polfaden. Die Sporoblasten waren abgerundet; junge hatten nur eine feine, alte Pansporoblasten eine sehr dicke Membran. Sie

haben dieser Microsporidienart den Namen *Plistophora acerinae* gegeben.

Die von mir beschriebene *Glugea acerinae* differiert von der *Plistophora acerinae* durch mehrere Merkmale. Die Sporen sind bedeutend größer ( $3,5-4,5 \times 2-3 \mu$ ), auch der Polfaden um viel länger ( $80-100 \mu$ ). Ferner lagen meine Cysten, welche im Gegenteil kleiner sind, in der Tunica propria des Darmes und nicht im Mesenterium, und es kommt nicht zur Bildung von mehrsporigen Pansporoblasten, welche für die Gattung *Plistophora* so typisch ist.

Auch von den übrigen, in Fischen gefundenen Plistophorenarten ist die von mir beschriebene neue *Glugea*-Art verschieden, sie ist auch kein Muskelparasit wie diese.

---

### Literaturverzeichnis.

- 1) AWERINZEW u. FERMOR (1911): Studien über parasitische Protozoen. Zur Frage über die Sporenbildung bei *Glugea anomala*. Arch. f. Protistenk. Bd. 23.
  - 2) HAGENMÜLLER (1899): Sur une nouvelle Myxosporidie. *Nosema stephani*, parasite du Flessus passer. C. R. l'Acad. Sc.
  - 3) KUDO (1920): On the structure of some Microsporidian Spores. Journ. of Parasit Vol. 6.
  - 4) — (1924): A biological and taxonomic study of the Microsporidia. Illinois biological Monographs Vol. 9.
  - 5) MRÁZEK (1899): Sporozoenstudien. II. *Glugea lophii* DOFLEIN. Sitz.-Ber. d. k. böhm. Ges. d. Wiss.
  - 6) — (1911): Zur Auffassung der Myxocystiden. Arch. f. Protistenk. Bd. 18.
  - 7) SCHUBERG (1910): Über Microsporidien aus dem Hoden der Barbe usw. Arb. kaiserl. Gesundheitsamte Bd. 23.
  - 8) STEMPELL (1904): Über *Nosema anomalum*. Arch. f. Protistenk. Bd. 4.
  - 9) —: Über *Nosema bombycis*. Ibid.
  - 10) — (1911): Zur Morphologie der Microsporidien. Zool. Anz Bd. 35.
  - 11) VANEY u. CONTE (1901): Sur deux nouveaux Sporozoaires endospores parasites de l'*Acerina cernua*. Annales de la Soc. Linnéenne de Lyon T. 47.
  - 12) WEISSENBERG (1913): Beiträge zur Kenntnis des Zeugungskreises der Microsporidien *Glugea anomala* MONIEZ und *hertwigii* WEISSENBERG. Arch. mikr. Anat. Bd. 82 Abt. II.
  - 13) — (1921): Zur Wirtsgewebeableitung des Plasmakörpers der *Glugea anomala*-Cysten. Arch. f. Protistenk. Bd. 42.
  - 14) ZWÖLFER (1926): *Plistophora Blochmausi*, eine neue Microsporidie aus *Gammarus pullex* L. Ibid. Bd. 54. .
-

**Tafelerklärung.**

Tafel 15 u. 16.

Bei der Reproduktion alle Microphoto ein wenig verkleinert.

## Tafel 15.

Fig. 1. Reife Sporen im Ausstrich. (GIEMSA, Apochr. 90:1, Oc. Comp. 15:1.)

Fig. 2. In die bindegewebige Membran eingedrungene Wanderzellen. Mikrophoto der Textfig. 2, Apochr. Imm. 60:1, Oc. 8:1.)

Fig. 3. Maschenstruktur in einer alten Cyste. (MALLORY, Apochr. 90:1, Oc. 8:1.)

Fig. 4. *Glugea*-Cyste mit degeneriertem Kern in der Sporenmasse. (DOMINICI, Imm. Apochr. 60:1, Oc. 8:1.)Fig. 5. Junge *Glugea*-Cyste. Balkengerüst im degenerierten Kerne. Die dunkleren Stellen zwischen den fast ungefärbten Sporen sind die Schizontenschläuche. (DELAFIELD-Eosin, Imm. Apochr. 90:1, Oc. Peripl. 8:1.)

## Tafel 16.

Fig. 6. Ältere *Glugea*-Cysten. Eigenmembran, lockeres Bindegewebe zwischen der Cyste und dem Darmepithel. (MALLORY, Imm. Apochr. 60:1, Oc. Peripl. 8:1.)Fig. 7. Zwei *Glugea*-Cysten. In dem Winkel, wo sich ihre Hüllen treffen, ist im Schnitt gerade eine Kapillare mit einem Erythrocyten getroffen. Die reifen Sporen sind schwarz gefärbt. (HEIDENHAIN-MAGENTA-Lichtgrün, Imm. Apochr. 60:1, Oc. 8:1.)Fig. 8. Übersichtsbild der Lage der *Glugea*-Cysten in den Darmzotten. Die Cysten, sechs an der Zahl, heben sich durch ihre tief schwarz gefärbte Sporen gut von dem blässerem Darmgewebe vor. (HEIDENHAIN-MAGENTA-Lichtgrün, Obj. ZEISS. Apochr. Oc. 8:1.)

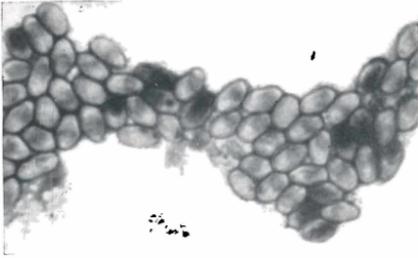


Fig. 1

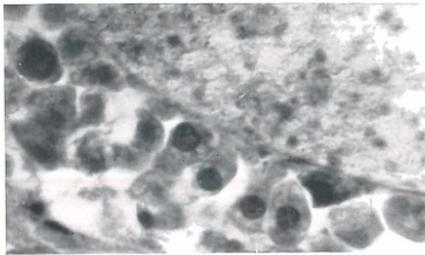


Fig. 2

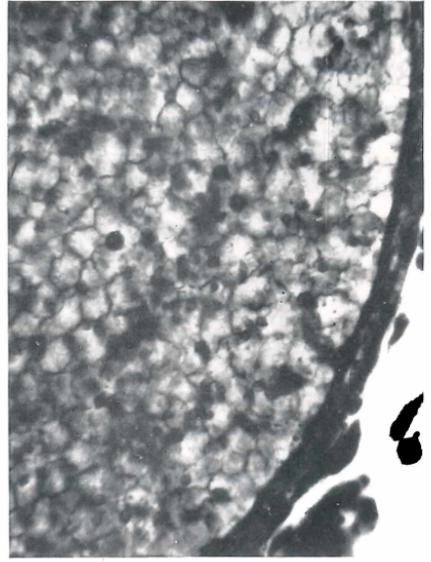


Fig. 3

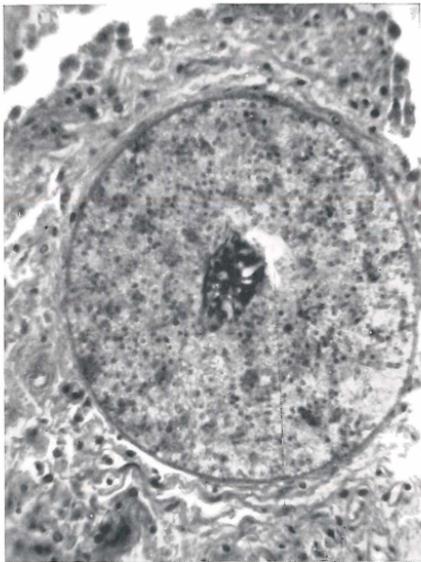


Fig. 4

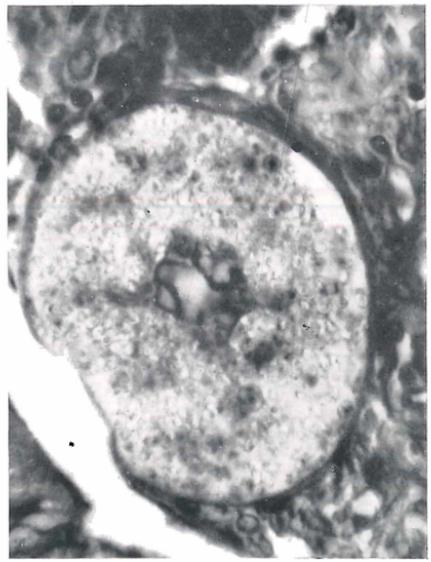


Fig. 5

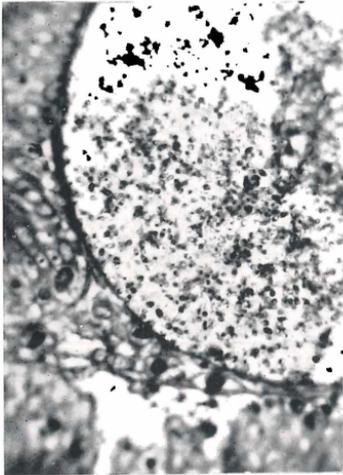


Fig. 6

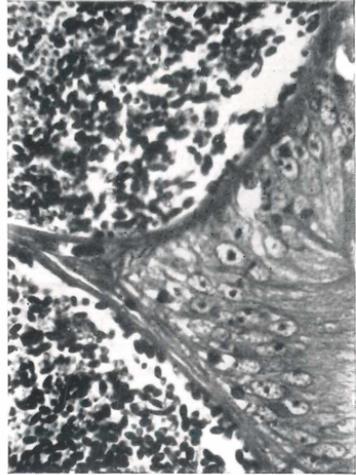


Fig. 7

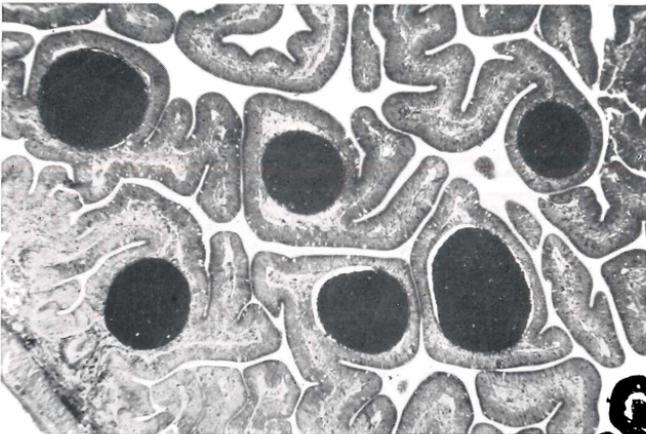


Fig. 8

# ZOBODAT - [www.zobodat.at](http://www.zobodat.at)

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

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

Jahr/Year: 1930

Band/Volume: [72 1930](#)

Autor(en)/Author(s): Jirovec Otto

Artikel/Article: [Über eine neue Microsporidienart \(\*Glugea acerinae\* n. sp.\) aus \*Acerina cernua\*. 198-213](#)