Nachdruck verboten.
Übersetzungsrecht vorbehalten.

Kleinere Mitteilungen.

(Zoologisches Institut der Karls-Universität in Praha. ČSR.)

Haplosporidium černosvitovi n. sp.

eine neue Haplosporidienart aus *Opistocysta (Pristina) flagellum* Leidy.

Von

Otto Jírovec.

(Hierzu Tafel 12.)

Herr Koll. Dr. L. Cernosvitov sammelte während seines einjährigen Aufenthaltes in Argentina (Staat Missiones) eine große Anzahl von verschiedensten Oligochäten. Als er nach unserem Institute wieder zurückkehrte und die Oligochäten systematisch zu studieren begann, machte er mich aufmerksam auf einige in seinem Materiale vorkommenden Parasiten, die er mir gefälligst zur weiteren Verarbeitung übergab. Ich spreche ihm an dieser Stelle dafür meinen besten Dank aus. In dieser Arbeit beschreibe ich eine neue Haplosporidienart aus dem Oligochäten *Opistocysta* (*Pristina*) *flagellum*, die ich meinem Freunde und Kollegen zu Ehren *Haplosporidium černosvitovi* n. sp. benenne. Der Wirt, *Opistocysta flagellum*, wurde in kleinen Bächen und Flüssen in der Umgebung von Loreto (Missiones-Argentina) gesammelt und wies gleichzeitig eine ziemlich starke Infektion durch eine *Nosema*-Art, die ich anderswo beschreiben werde. Von 36 an Schnittserien untersuchten Würmern waren nur vier mit dem *Haplosporidium* infiziert, also etwa 12 Proz., drei davon zeigten eine relativ

schwache Infektion, hauptsächlich nur aus jungen zweikernigen Stadien bestehend, der vierte Wurm war so stark infiziert, daß sein Vorderende tumorartig aufgeschwollen und mit verschiedensten Stadien des Parasiten vollgepfropft war.

Die 5 μ dicken Schnittserien wurden alle mit HEIDENHAIN-Kongorot gefärbt. Die neue Haplosporidienart weist eine große Ähnlichkeit mit *Haplosporidium limnodrili* (GRANATA, 1915) aus *Limnodrilus udekemianus*, die in Italien gefunden wurde. Ich konnte fast alle Stadien, wie sie GRANATA (1915) abbildet, wiederfinden, doch ist für meine Art typisch die kleinere Zahl der Sporen in einer Cyste, nämlich nur acht, während GRANATA etwa 50 Sporen gefunden hat, so daß wir sie mit gutem Recht als eine neue Art auffassen können. Auch in einigen cytologischen Details fanden sich Unterschiede und merkwürdige, bei anderen Haplosporidien noch nicht beschriebenen Strukturen, wie aus folgendem ersichtlich wird.

1. Anfangsstadien der Infektion.

Die jüngsten Stadien des Parasiten sind rundlich, oder durch das herumliegende Gewebe oder ältere Parasiten verschieden verflacht, und liegen offenbar intracellulär in den Epithelzellen der Darmwand. Ganz sicher konnte dies jedoch nicht festgestellt werden, da die Grenzen zwischen den einzelnen Epithelzellen nicht immer deutlich sind. In anderen Geweben wurde unser Parasit nicht gefunden, während GRANATA das *Haplosporidium limnodrili* auch in Chloragogenzellen, Peritoneum und Geschlechtsapparat gefunden hat. Das Plasma ist fein granuliert, an seiner Peripherie mit einer deutlichen Membran abgegrenzt. Die jüngsten Stadien messen etwa 12—15 × 7—10 μ, und sind leicht nach ihrer typischen Doppelkernigkeit zu erkennen (Taf. 12 Fig. 14 links und rechts von der achtsporigen Cyste). Die beiden Kerne liegen gewöhnlich dicht aneinander, so daß die Grenzfläche abgeplattet ist.

Der Bau der Kerne ist sehr auffallend und typisch für die in Süßwasseroligochäten vorkommenden Haplosporidien, wie am besten durch Vergleich mit den Figuren von GRANATA (1915) ersehen ist. Der Kern ist von einer deutlichen Membran umgeben. In seinem Inneren finden wir einen (sehr selten zwei) großen Nucleolus, der von einer klaren Zone umgeben ist und nach HEIDENHAIN eine dichtere, tiefschwarze Grenzschicht aufweist, die eine grau gefärbte Zentralmasse umgibt. Ähnliche Nucleolenstrukturen kommen auch in weiteren Entwicklungsstadien unseres Parasiten vor. (Bei *Haplosp.*

limnodrili fand Granata häufig Vakuolen im Inneren des Nucleolen). Das Kernchromatin bildet im Ruhekern ein feines Fadengerüst (Taf. 12 Fig. 2), wie es auch Granata in seinen Abb. 14 bis 17, abbildet. Häufiger ist jedoch das Chromatin zu einem Haufen im Zentrum des Kernes zusammengeballt, so daß an der Kernperipherie eine freie Zone entsteht (Taf. 12 Fig. 1, 14, usw.). Granata faßt solche Kernbilder als Prophase auf, Debaissieux (1920) schreibt jedoch: „il semble que les fixateurs alcooliques employés par Granata aient entrainé des confractions anormales du caryoplasma.“ Da mein Material mit Zenkers Flüssigkeit fixiert wurde und ich an gleichem Schnitte sowohl Ruhekerne als auch Prophasen und weitere Stadien der Kernteilung finden konnte, scheint mir ein solcher Einfluß des Fixierungsmittels in diesem Falle ausgeschlossen.

Endlich finden wir im Kerninneren regelmäßig noch ein Stäbchen (Kernstab), daß sich nach Heidenhain grau bis schwarz färbt und durch den ganzen Kern reicht (Taf. 12 Fig. 1, 2, 14). Dieses Gebilde ist im Kerne auch in weiteren Stadien des Zyklus zu finden, wie noch später hervorgehoben wird. Gleiches Stäbchen beschrieb Granata bei *Haplosp. limnodrili* und meint, daß auch bei *Haplosp. marchouxi* und anderen, von Caullery und Mesnil (1905) beschriebenen Arten dieser Kernstab vorhanden ist, denn die beiden genannten Autoren zeichnen in den Kernen ein Kreischen, das wohl der Polansicht des Kernstabes entspricht. In den Kernen von *Haplosporidium* aus *Nereis diversicolor*, das neuerdings von Dehorne beschrieben wurde, scheint keine solche Struktur vorhanden zu sein. Bei der Kernteilung lockert sich der Kernstab in einzelne Fasern auf und bildet so die Teilungsspindel (Taf. 12 Fig. 3, 4, 5, 6). Nach der erfolgten Mitose bildet sich der Kernstab wieder von neuem. Die Kerne in jungen Stadien messen durchschnittlich $5\mu \times 4\mu$. Ich konnte immer nur zweikernige Stadien beobachten; dort, wo anscheinend nur ein Kern gesehen wurde, fand sich der zweite am nächsten Schnitte.

2. Ältere Stadien.

Die zweikernigen Stadien verwandeln sich durch Wachstum und aufeinanderfolgende Kernteilungen in mehrkernige Plasmodien. Die Kernteilungen verlaufen ganz auf die Weise, wie sie von Granata für *Haplosp. limnodrili* beschrieben wurden, deshalb begnüge ich mich nur mit einer kurzen Darstellung. Der Kernstab teilt sich in die Spindelfasern auf, das Chromatin sammelt sich mit dem Nucleolus in der Kernmitte (Metaphase Taf. 12 Fig. 3) und bildet dort eine

dicke Platte, die sich dann in zwei Chromatinmassen teilt. Beide Chromatinmassen sammeln sich an den Polen des langgestreckten Kernes, dessen Membran während der ganzen Kernteilung erhalten bleibt (Anaphase Taf. 12 Fig. 4, 5, 6). Der Nucleolus teilt sich hantelförmig (Taf. 12 Fig. 4, 5) in zwei Stücke, die auch nach den Polen wandern (Taf. 12 Fig. 6). Ein vierkerniges Stadium mit Ruhekernen sehen wir an der Fig. 7 Taf. 12. Durch weitere Kernteilungen entstehen Plasmodien mit 8, 16 und mehr Kernen, bisweilen 20, 23, 24. Der Kernteilungstypus bleibt während des ganzen Zyklus immer derselbe (Taf. 12 Fig. 8, 9, 10).

Wir müssen noch eine Struktur im Plasma unseres Parasiten erwähnen. Schon in den jüngsten zweikernigen Stadien beobachten wir im Plasma ein etwa 4—5 μ langes, nach Heidenhain tief schwarzes Stäbchen, daß beim Herabsenken des Mikroskoptubus als ein etwa 3 μ hohes, wahrscheinlich rundliches Plättchen erscheint (Taf. 12 Fig. 1, 2). Dieses Plättchen ist immer nur in Einzahl vorhanden und ich konnte es in allen weiteren Stadien verfolgen. An den Fig. 8, 9, 10, 11, Taf. 12, finden wir es in vielkernigen Plasmodien, auch in Cysten mit reifenden Sporen liegt es frei außerhalb der Sporen. Die Bedeutung und Herkunft dieses merkwürdigen, bei anderen Haplosporidien meines Wissens noch nicht beschriebenen Gebildes bleibt völlig unklar. Nur eine Andeutung sehen wir in der Struktur der reifen Sporen, an deren Poldeckel eine nach Heidenhain tiefschwarze Randnaht zu finden ist (Taf. 12 Fig. 16). Es scheint mir möglich, daß diese Randnaht von dem ausschlüpfenden Keimling aufgenommen wird und in seinem Plasma bis zu der Sporenbildung erhalten bleibt. Erst beim Zerfall des Plasmodiums in einzelne Sporen wird es ausgeschieden.

3. Zur Frage der Schizogonie und Gamogonie.

Der weitere Entwicklungszyklus unserer Art zeigt die gleichen Lücken wie bei allen bis jetzt bekannten Haplosporidienarten: nämlich die Frage über die Schizogonie und Gamogonie, die bei den Haplosporidien überhaupt noch nicht gelöst ist. Ich zitiere Caullery und Mesnil (1905): „Nous n'avons pas pu ici non plus nettement séparer la phase schizogonique de la phase sporogonique.“ Bei *Haplosp. marchouxi* verläuft der Entwicklungszyklus, ihrer Beobachtungen gemäß, folgenderweise: Junge 1—2 kernige Stadien wachsen zu vielkernigen Plasmodien auf, die von einer Hülle umgeben sind und in zuerst einkernige Pansporoblasten zerfallen. Diese teilen sich zwei-

mal hintereinander, so das aus jedem Pansporoblasten im ganzen vier Sporen entstehen. Bei *Haplosp. vejdovskyi*, das in Darmzellen von *Enchytreus albidus* lebt, ist die Entwicklung ähnlich. Aus jungen, immer zweikernigen Stadien entstehen vielkernige Sporonten, die wieder in einkernige Sporonten zerfallen. Aus jedem Sporonten entsteht eine einkernige Spore. In den Cysten kommen auch zweikernige Sporonten vor. Außerdem gibt es noch Stadien mit granulierten Kernen, die einen vakuolenhaltigen großen Nucleolus besitzen, sowie zahlreiche Übergänge zwischen beiden Typen. Auch bei dieser Art gelang es den sehr erfahrenen Autoren nicht mit Sicherheit die beiden Zyklen — Schizogonie und Sporogonie — zu unterscheiden. Bei *Haplosp. limnodrili*, mit welcher Art unser Parasit am nächsten verwandt ist, zerfallen nach Granata die ausgewachsenen vielkernigen Plasmodien in 10 — 12 Schizonten, die 7—8 μ messen, also um etwas größer, als die Gameten sind. Nach mehreren solchen Schizontengenerationen zerfallen die neu angewachsenen Plasmodien in etwa 50 einkernige, 5 μ große Gameten, die von einer gemeinsamen Cyste umgeben sind und in ihrem Inneren je zu zwei und zwei kopulieren. Aus jeder Kopula entsteht eine einkernige Spore. Bei *Haplosp.* (*Minchinia*) *chitonis* fand Pixel-Goodrich (1915) Plasmotomie der vielkernigen Plasmodien, wodurch eine Vermehrung der Parasiten innerhalb desselben Wirtes ermöglicht wird. Die eingekapselten Plasmodien zerfallen in einkernige Gameten. Wahrscheinlich encystieren sich auch zwei Plasmodien zusammen, so daß die Gameten in diesem Falle von zwei verschiedenen Plasmodien kopulieren.

Debaisieux (1920) bezweifelt die Angaben Granatas über die Schizogonie und Geschlechtsprozesse bei *Haplosp. limnodrili*, denn er selbst konnte bei *Haplosp. chitonis* und *Haplosp. nemertis* mit Sicherheit keine Anzeichen der Schizogonie finden. Nach ihm wachsen die jungen zweikernigen Parasiten zu vielkernigen Plasmodien auf und zerfallen dann einfach in einkernige Gebilde. Die Bildung und Kopulation von Gameten konnte Debaisieux bei den von ihm untersuchten Arten nicht bestätigen, dagegen vermutet er Caryogamie (also Autogamie) während der Entwicklung der Plasmodien. Die durch Zerfall der Plasmodien entstandenen einkernigen Gebilde können teilweise wieder zu Plasmodien aufwachsen und so zur Vermehrung in demselben Wirte dienen. Auch in diesen jungen zweikernigen Stadien soll eine Caryogamie möglich sein (wie auch Granata und Pixel-Goodrich beobachtet haben wollten): „Deux hypothéses sont possible en ce qui concerne la fécondation: ou bien les gros

noyaux plasmodiaux sont le résultat d'une autogamie, où bien les noyaux de sporoblastes sont le résultat d'une autogamie de deux noyaux-filles. Il n'y a certainement pas copulation de gamétes." Aus jedem Sporoblasten entsteht eine einkernige Spore. DEBAISIEUX konnte also eine deutliche Trennung der Schizogonie und Sporogonie nicht beobachten. Ebensowenig gelang es VAN RYCKEGHEM (1930) bei *Haplosporidium gammari*. DEHORNE (1935) beschreibt bei seinem *Haplosporidium* nur Plasmotomie.

Auch mein Material war zur definitiven Lösung dieser Frage nicht geeignet. Ich beobachtete eine große Menge von vielkernigen Plasmodien mit Anzeichen des Zerfalles in einkernige Gebilde (Taf. 12 Fig. 11). Aus einem Plasmodium entstehen etwa 12—20, größtenteils 16 solcher einkernigen kugeligen Gebilde. Ihr Kern hat einen Chromatinklumpen von einer hellen Zone umgeben und mißt etwa 2,5—3,5 μ. In seinem Inneren ließ sich der Kernstab nicht mehr feststellen. Da bei der Sporogonie in den Cysten größtenteils acht Sporen entstehen, ist es augenscheinlich, daß sich diese Gebilde nicht direkt in Sporonten verwandeln können. Auch sind sie von keiner gemeinsamen Cystenmembran umgeben. Es war mir aber unmöglich zu entscheiden, ob diese einkernigen Stadien als Schizonten oder als Gameten zu deuten sind. Als Gameten könnten vielleicht nur drei der gesehenen Stadien angesehen werden, von denen ich eins an der Fig. 13 Taf. 12 abgebildet habe. Wir sehen vier größere Kerne, die im Inneren zwei gleich große Chromatinhaufen besitzen, und dann noch mehrere kleinere Kerne mit einzigen Chromatinhaufen, von denen ich nur drei eingezeichnet habe. Ich wäre geneigt, in den ersten vier Doppelkernen das Produkt einer Caryogamie zu sehen, denn bei normalen Kernteilungen kommt es niemals zur Bildung solcher Chromatinhaufen, wie wir ja bei Beschreibung der Mitose gesehen haben, und mit einer „Amitose" ist man seit den grundlegenden Arbeiten BĚLAŘ's sehr vorsichtig. Da ich jedoch im ganzen nur drei solche Stadien gesehen habe, muß die Frage vorläufig noch offen bleiben.

4. Sporogonie.

Wie gesagt, entstehen in den Cysten fast regelmäßig acht Sporen, während bei *Haplosp. limnodrili* etwa 50 Sporen gebildet werden. Nur ausnahmsweise kommen Cysten mit mehr Sporen vor (Taf. 12 Fig. 15). Die jungen Sporonten sind zuerst kugelig, später nehmen sie elliptische Gestalt an. Jede Spore besitzt einen einzigen Kern mit freier Peripherie und einer Chromatinanhäufung in der Mitte

des Kernes. Der Kern mißt in der reifen Spore etwa 2,5—3 μ, ein Kernstab ist nicht sichtbar. In jungen Sporen ist der Kern bedeutend größer, nämlich 4—5 μ. Im Vorderende der nicht ganz reifen, aber schon elliptischen Sporen liegt in einer klaren Zone noch eine granulierte Anhäufung, deren Herkunft und Funktion noch unklar ist. King (1926) identifiziert sie mit dem Golgi-Apparat. Auch andere Forscher haben solche Anhäufungen in den Sporen der Haplosporidien gefunden, so Caullery und Mesnil bei *Haplosp. vejdovskyi*, *Haplosp. heterocirri* und *Haplosp. scolopli*, Granata bei *Haplosp. limnodrili* („Corpo achromatico"), Pixel-Goodrich bei *Haplosp. chitonis*, Debaissieux bei *Haplosp. chitonis* und *Haplosp. nemertis*. In reifen Sporen verschwindet dieses Gebilde gänzlich. Die reifen Sporen messen 10—11 $\mu \times$ 6—7 μ (am Schnittpräparate gemessen), haben eine dickere Außenhülle mit typischem Poldeckel und eine feinere Innenhülle. Am Rande des Poldeckels ist die schon erwähnte, nach Heidenhain tiefschwarze Randnaht.

Nicht unerwähnt soll bleiben, daß ich einigemal auch Plasmodien mit ziemlich dunkel gefärbtem Plasma und kleinen Kernen (2—2,5 μ) beobachten konnte (Taf. 12 Fig. 12), die sehr an die erinnern, welche Debaisieux in seiner Arbeit erwähnt (1920): „D'autre part on observe souvent des parasites plasmodiaux à protoplasme spécialement dense et colorable, à contours irréguliers, à noyaux trop petits pour appartenir aux stades qui préparent la sporogonie normale, ou trop nombreux pour appartenir aux stades de la multiplication plasmodiale (Fig. 33, 34, 35), bref, des parasites qui paraisent appartenir à une période de multiplication végétative. Il est souvent malaisé de différencier nettement ces parasites de ceux décrits antérieurement, car aucun des caractéres cités n'est probant et de nombreux parasites intermédiaires se rencontrent."

Aus dem bisher Gesagten sehen wir, daß bei der Gattung *Haplosporidium* mit Sicherheit nur die Sporogonie bekannt ist. Über die Schizo- und Gamogonie liegen nur Vermutungen vor. Wenn wir die starken Infektionen des Wirtes in Betracht nehmen, müssen wir eine Vermehrung der Haplosporidien in demselben Wirte — möge dieselbe durch Schizogonie oder Plasmotomie geschehen — als wirklich vorhanden annehmen. Auch über die Geschlechtsverhältnisse wissen wir nichts Sicheres, denn es dürfen nicht jede zwei eng aneinander gepreßte Kerne für Caryogamie gehalten werden, wie es so manche Forscher tun. Bevor nicht Arten gefunden werden, bei welchen die Chrosomen gezählt werden können, gelingt es nicht, die Frage definitiv zu lösen.

5. Zusammenfassung.

Im Darmepithel von *Opistocysta* (*Pristina*) *flagellum* (Süßwasser-oligochät aus Argentinien) wurde eine neue Art *Haplosporidium černosvitovi* n. sp. gefunden. Junge Stadien sind zweikernig und haben in ihrem Plasma ein Stäbchen unklarer Herkunft. Vielkernige Plasmodien encystieren sich und zerfallen in einkernige Sporen. In jeder Cyste entstehen acht Sporen, die 10—11 $\mu \times$ 6—7 μ messen, und mit einem für Haplosporidien typischen Poldeckel versehen sind.

Literaturverzeichnis.

Caullery, M. et F. Mesnil (1905): Recherches sur les Haplosporidies. Arch. Zool. exp. 4. Série T. 4 p. 101—181.

Debaisieux, Paul (1920): Haplosporidium chitonis, Haplosporidium nemertis et la groupe des Haplosporidies. La Cellule. T. 30 p. 217—243.

Dehorne (1935): Observations cytologiques sur une nouvelle éspéce d'Haplosporidium, parasite du coelom de Nereis diversicolor. C. R. Acad. Sci. T. 200. Paris.

Granata, Leopoldo (1915): Ricerche sul ciclo evolutivo di Haplospodium limnodrili (Granata). Arch. f. Protistenk. Bd. 35 p. 47—79.

Mercier, L. et R. Poisson (1922): Une Haplosporidie, Haplosporidium Caulleryi n. sp. parasite de Nereislepas fucata Sav. C. R. Acad. Sci. T. 174 p. 837. Paris.

Pixel-Goodrich, H. (1915): Minchinia, a Haplosporidian. Proc. Zool. Soc. p. 445. London.

van Ryckeghem, J. (1930): Les Cnidosporidies et autres parasites du Gammarus pulex. La Cellule. T. 39 p. 401—418.

Duboscq et Haraut (1923): C. R. Ac. Sci. T. 177 p. 433. Paris.

King, S. D. (1926): Cytological observations on Haplosporidium (Minchinia) chitonis. Q. Jour. Microscop. Sci. Vol. 70 p. 147—158. London.

Tafelerklärung.

Tafel 12.

Haplosporidium černosvitovi n. sp. aus *Opistocysta flagellum* (Oligochät aus Argentinia). Alle Figuren sind mit Zeichenapparat bei Ölimmersion Zeiss 90 $\times$ und Komp. Ok. 15 $\times$ an der Basis des Mikroskopes gezeichnet. Fixation mit Zenkers Flüssigkeit, gefärbt mit Heidenhains Hämatoxylin.

Fig. 1—2. Junge zweikernige Stadien.

Fig. 3—6. Kernteilung der jungen Stadien. 3 Metaphase. 4, 5, 6 Anaphase.

Fig. 7. Vierkerniges Stadium, Kerne in Ruhe mit feinem Chromatingerüst.

Fig. 8—10. Kernteilungen in vielkernigen Plasmodien.

Fig. 11. Großes vielkerniges Plasmodium vor Auflösung in Gameten (?).

Fig. 12. Plasmodium mit dunklem Plasma und kleinen Kernen.

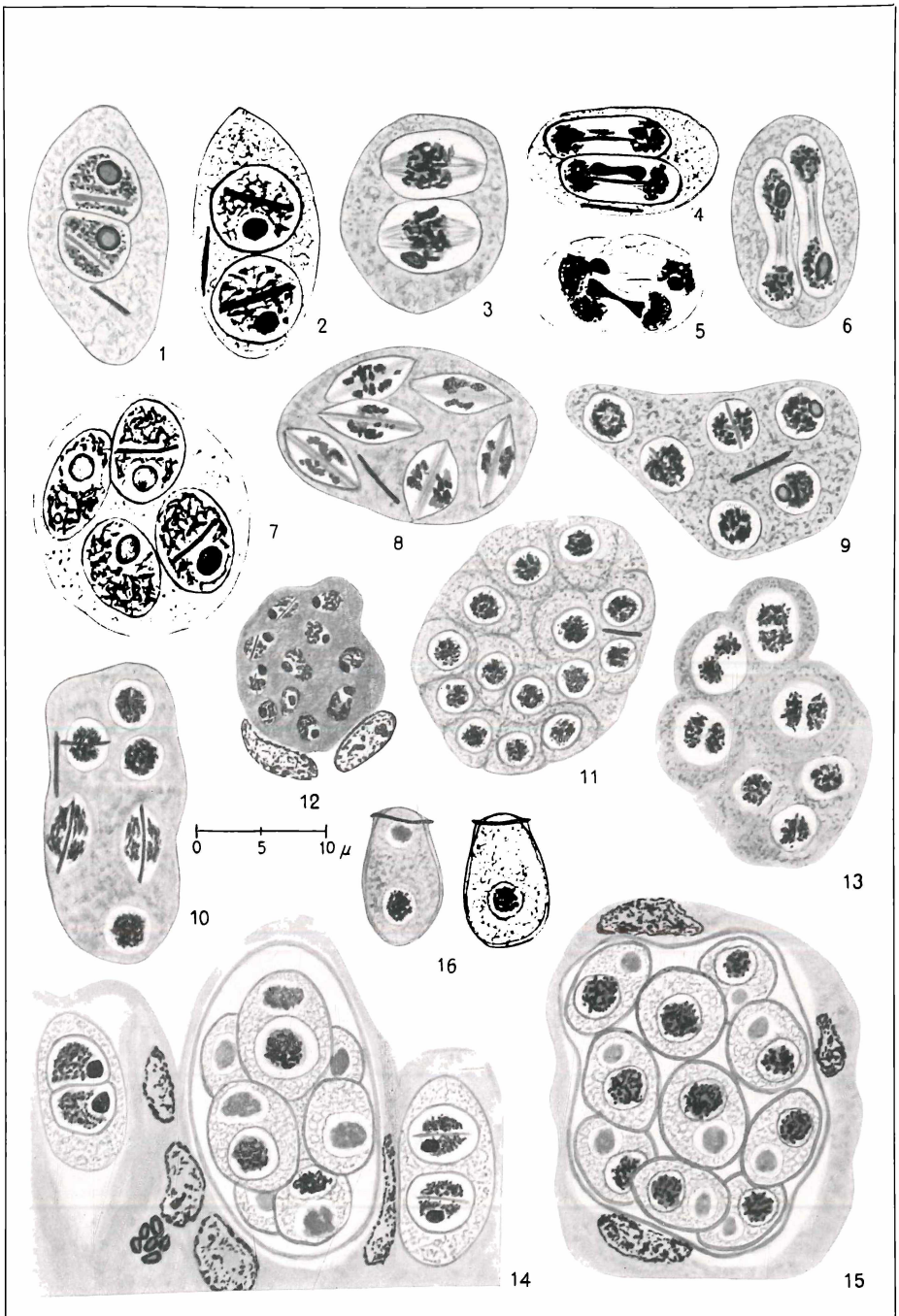
Fig. 13. Karyogamie (?).

Fig. 14. Achtsporige Cyste und zwei junge Stadien in der Darmwand des Wurmes.

Fig. 15. Vielsporige Cyste, die jedoch nur selten beobachtet wird, denn regelmäßig werden achtsporige gefunden.

Fig. 16. Links noch nicht ganz reife Spore, rechts reife Spore, in der die „achromatische Masse“ im Vorderende bereits verschwunden ist.

LIPPERT & CO. G.M.B.H., NAUMBURG (SAALE)
Printed in Germany



Jirovec.

VERLAG VON GUSTAV FISCHER IN JENA.

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: Archiv für Protistenkunde

Jahr/Year: 1935

Band/Volume: 86_1935

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

Artikel/Article: Haplosporidium cernosvitovi n. sp. eine neue Haplosporidienart aus Opistocysta (Pristina) flagellum Leidy. 500-508