

Morphologie, Infraciliatur und Silberliniensystem von *Protoopalina symphysodonis* nov. spec. (Protozoa: Opalinata), einer Opalinidae aus dem Intestinum von *Symphysodon aequifasciata* Pellegrin (Percoidei: Cichlidae)

Morphology, Infraciliature, and Silverline System of *Protoopalina symphysodonis* nov. spec. (Protozoa: Opalinata), an Opalinidae from the Intestinum of *Symphysodon aequifasciata* Pellegrin (Percoidei: Cichlidae)

VON WILHELM FOISSNER¹, GOTTFRIED SCHUBERT UND NORBERT WILBERT

Zoologisches Institut der Universität Salzburg, Institut für Zoologie der Universität Hohenheim und Zoologisches Institut der Universität Bonn

Mit 32 Abbildungen und 2 Tabellen

(Eingegangen am 8. Februar 1978)

A b s t r a c t

The morphology, infraciliature, and silverline system of *Protoopalina symphysodonis* nov. spec. was investigated, using various methods, e. g. living observation, silver nitrate and protargol impregnation. *P. symphysodonis* lives in the rectum of the fresh-water fish *Symphysodon aequifasciata* Pellegrin. This is the fourth Opalina described from fish. The infection has no influence on the lightmicroscopical structure of the epithelium of the rectum, but most infected animals died. *P. symphysodonis* can be controlled by agents which are effective against flagellates. Comparative investigations of the infraciliature showed that *P. symphysodonis*, having an extraordinarily small falx and more spiralized kineties, is very different from *P. intestinalis* and *P. caudata*. A statistical analysis of some parameters (e. g. length, width) showed that it is meaningless to estimate the coefficient of correlation.

The necessity of a better knowledge of the infraciliature and its importance for the taxonomy of the lower categories is emphasized in the discussion.

Einleitung

Der typische Lebensraum der Opaliniden ist der Enddarm der Anuren. Aus anderen Wirten sind bisher nur vereinzelte Funde bekannt geworden (s. zusammenfassende Darstellungen bei METCALF 1923, 1940; SANDON 1976). Im Intestinum der Fische wurden unseres Wissens nach bisher nur drei Species festgestellt: *Protoopalina saturnalis* (LÉGER et al. 1904) in *Box boops*, *Protoopalina dubosequi* LAVIER, 1936 in *Gadus capelanus* und *Zelleriella piscicola* DA CUNHA et al., 1926 in einem Teleostier. SANDON (1949) erwähnte noch Funde aus verschiedenen Nilfischen, hat aber bisher keine Beschreibung der festgestellten Arten publiziert.

Schon früher machte einer von uns (SCHUBERT 1972) auf ein wimpertierähnliches Protozoon aus dem Enddarm von *Symphysodon* aufmerksam. Dieser Parasit konnte nun, nachdem er wiederholt im gleichen Wirt gefunden worden war, als

¹ Herrn Dr. HAROLD SANDON (England) danken wir für wertvolle Hinweise.

neue Species der Gattung *Protoopalina* METCALF, 1920 identifiziert werden. Dieser Fund verdient nicht nur in parasitologischer Hinsicht unser Interesse, sondern auch deswegen, weil er ein weiteres Indiz dafür ist, daß die Opaliniden stammesgeschichtlich älter als die Anuren sind (vgl. SANDON 1976). Außerdem konnten wir durch die Anwendung verschiedener Silberimprägnationsverfahren, die bisher bei den Opaliniden nur selten gebraucht worden sind, interessante Ergebnisse erzielen, die von allgemeiner Bedeutung für die Taxonomie der niederen Kategorien sind.

U n t e r s u c h u n g s m e t h o d e n

Zur Untersuchung kamen ausschließlich Individuen, die frisch aus dem Rectum der Wirte entnommen worden waren. Auf eine sorgfältige Lebendbeobachtung wurde großer Wert gelegt. Zum Studium der Infraciliatur und des Silberliniensystems wurden die Tiere mit Protargol nach WILBERT (1975) und Silbernitrat nach FOISSNER (1976) imprägniert. Die Färbung des Zellkernes erfolgte mit Orcein-Essigsäure und Hämalaun nach MAYER. Um die Lokalisation von *P. symphysodonis* im Wirt und die Wirkung auf das Darmepithel zu ermitteln, wurden von stark infizierten Wirten auch Schnitte durch den Enddarm angefertigt und mit Hämalaun-Eosin gefärbt.

Die zu den Vergleichsuntersuchungen herangezogenen Arten *Protoopalina intestinalis* und *P. caudata* fanden wir im Enddarm von *Bombina variegata* (Kiesgrubentümpel im Wahnbachtal bei Bonn, Seewinkel im Burgenland) und *Bombina bombina* (Neusiedler See, Burgenland).

B e s c h r e i b u n g v o n *Protoopalina symphysodonis* n o v. s p e c.

Körperform: Die Körperform und Größe ist bei den zwei untersuchten Stämmen sehr variabel (Abb. 1, 2, 3, 5, 6, 10, 11, 12, Tab. 1). Als charakteristisch kann jedoch das 10...20 μm lange, spitz ausgezogene distale Körperende angesehen werden. Dieser stachelartige Fortsatz, der sich bei starkem Druck in viele feine Fasern auflöst, ist meist fast gerade (Abb. 10, 11, 12, 15), selten auch stärker gekrümmt (Abb. 6, 14). Er wird von der Pellicula gebildet und enthält hyalines Plasma mit winzigen, granulären Einschlüssen. Das proximale Körperende, das ebenfalls manchmal leicht zugespitzt ist (Abb. 1, 2, 11), erscheint fast stets merkbar gebogen. Die Abbiegung beginnt in der Höhe des vorderen Kernteiles (Abb. 10). Vereinzelt wurden auch extrem kleine Individuen beobachtet (Abb. 7, 8), möglicherweise Mikrogameten. Der Körperquerschnitt ist im mittleren Teil des Tieres kreisrund, an den Körperenden aber deutlich ellipsoid.

Pellicula und Cilien: Die farblose Pellicula ist etwa 0,3 μm dick, fest, aber elastisch und läßt bereits beim lebenden Tier eine sehr feine Längsstreifung erkennen (Abb. 9 a, 13), die durch lamellenförmige Auffaltungen der Pellicula gebildet wird (FERNÁNDEZ-GALIANO 1947, BLANCKART 1957, NOÏROT-TIMOTHÉE 1966, WESSENBERG 1966). In den Protargolpräparaten ist manchmal noch eine granuläre Querstreifung erkennbar (KACZANOWSKI 1970), die vermutlich den Pinocytosevakuolen entspricht (Abb. 9 c) (NOÏROT-TIMOTHÉE 1966, SCHMEIER 1976). Die sehr feinen Cilien sind 10...15 μm lang und lassen am proximalen Ende einen sehr feinen, fadenförmigen Fortsatz erkennen (Abb. 9 d). Sie sind im vorderen Drittel des Tieres etwas dichter angeordnet, besonders im Bereich der Falx, wo sie fast schopfartig erscheinen. Dadurch wird bei flüchtiger Beobachtung auch vorgetäuscht,

daß sie hier länger sind. Das dichte Wimpernkleid ermöglicht eine schnelle Fortbewegung, die unter Rotation um die Längsachse erfolgt. Der „Stachel“ wird nachgezogen.

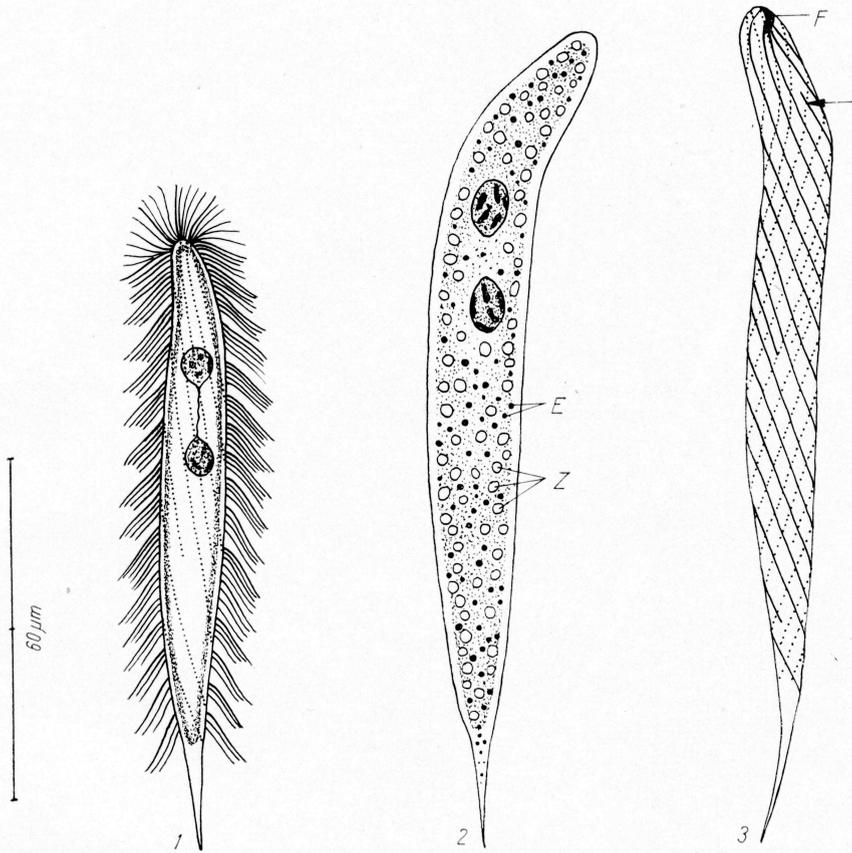


Abb. 1. *Protoopalina symphysodonis* (Stamm I). Körperform, Nucleus und Cilien nach einem lebenden Individuum. Kineten nach einem Silberpräparat

Abb. 2. *P. symphysodonis* (Stamm II). Körperform und Entoplasmacinschlüsse nach einem lebenden Individuum. Nucleus nach einem Protargolpräparat. Maßstab wie bei Abb. 1

Abb. 3. *P. symphysodonis* (Stamm II). Körperform nach einem lebenden Individuum. Kinetenverlauf und Falx (F) nach einem Protargolpräparat. Der Pfeil weist auf eine unterhalb der Falx beginnende Kinete. Maßstab wie bei Abb. 1

Zellkern und Entoplasma: Der in Form und Größe sehr variable Zellkern (Tab. 1) besteht aus zwei stets sehr ähnlichen Teilen. Beim ersten Stamm hatten fast alle Tiere kugelförmige bis leicht ovale Nuclei, die durch eine feine Brücke, die Kernmembran, verbunden waren (Abb. 1, 5). Diese fadenförmige, elastische Verbindung ist sehr widerstandsfähig. Selbst durch starkes Pressen und Verschieben des Deckglases gelingt es nicht, die zwei Kernteile zu trennen. Bei Stamm II wurden Tiere mit runden (Abb. 26), leicht bis stark ovalen (Abb. 21) und vereinzelt

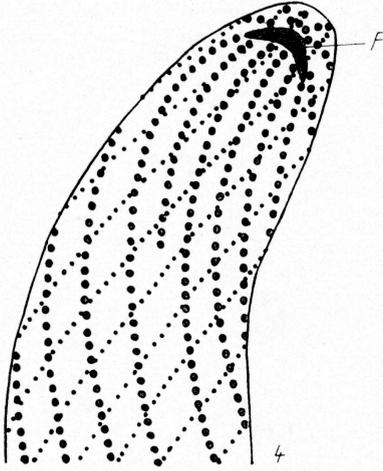


Abb. 4. *P. symphysodon* (Stamm II). Falx (F) und Kinetenverlauf im proximalen Teil. Protargolimpregnation

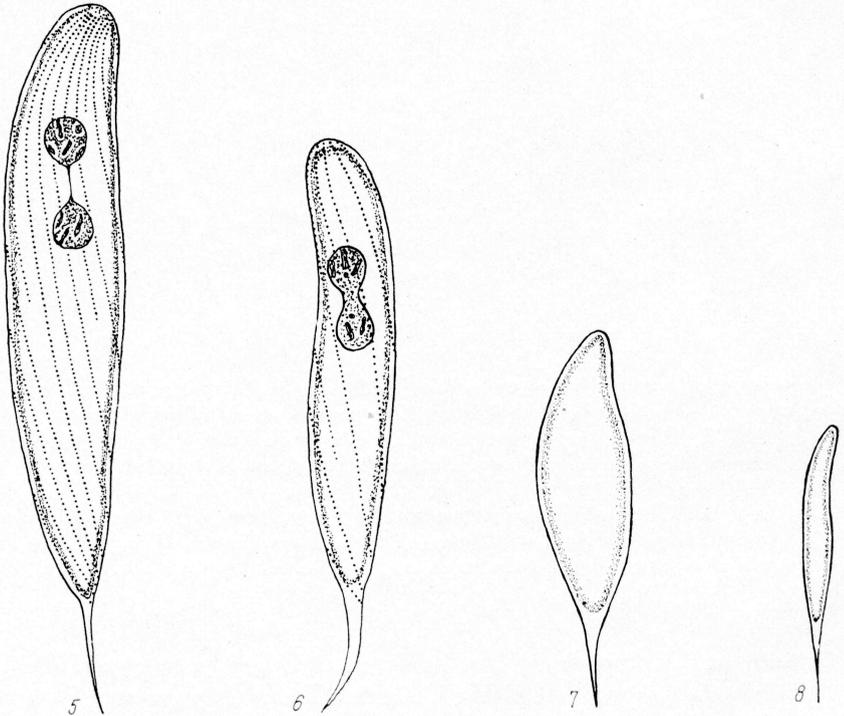


Abb. 5, 6. *P. symphysodon* (Stamm I). Körperform nach lebenden Individuen. Kinetenverlauf nach Silbernitratimpregnation. Nuclei nach Orcein-Färbung. Maßstab wie bei Abb. 1

Abb. 7, 8. *P. symphysodon* (Stamm II). Körperform extrem kleiner Individuen, vermutlich Mikrogameten. Maßstab wie bei Abb. 1

auch birnenförmigen (Abb. 20) Kernteilen beobachtet. Die beiden Nuclei waren meist isoliert. Die Innenstruktur der Kernteile ist ebenfalls variabel. Die Chromatinmasse kann schollenartig verteilt (Abb. 21, 26) oder auch zu größeren Aggregaten zusammengeballt sein (Abb. 2), die dann wohl den „Makrochromosomen“ von METCALF (1909) entsprechen (TZE-TUAN-CHEN 1948). Da keine Mitosestadien gefunden wurden (unter etwa 1000 beobachteten Individuen fand sich kein einziges Teilungsstadium!), konnte die Anzahl der Chromosomen nicht bestimmt werden.

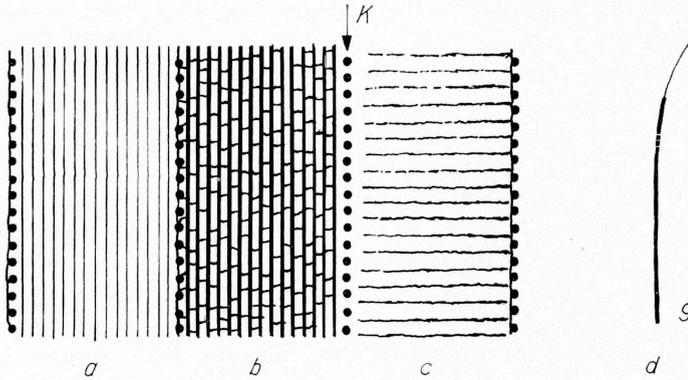


Abb. 9 a—d. *P. symphysodonis* (Stamm I und II). Teil der Pellicula nach dem Leben (a), nach Silbernitratimpregnation (b) und Protargolimpregnation (c). Die Cilien zeigen einen filamentösen Fortsatz (d), K = Kinete

Tabelle 1. Biometrische Daten von *Protoopalina symphysodonis*. Von Stamm I (Stuttgart) wurden Individuen von vier Wirten, von Stamm II (Salzburg) solche von zwei Wirtstieren zur Analyse verwendet

	<i>n</i>	Extrem- werte	\bar{x}	<i>s</i>	se (stan- dard- error)	Median
Stamm I (n. Silber- nitratpräparaten)						
Länge (µm)	23	60...125	91.8	20.16	4.2	95.5
Breite (µm)	23	11...38	24.5	6.43	1.34	24.0
Anzahl der Kineten	23	5...15	9.3	2.80	0.58	8.5
Stamm II (<i>in vivo</i>)						
Länge (µm)	12	45...140	97.8	32.60	9.41	97.0
Breite (µm)	12	6...15	11.3	3.08	0.89	10.0
Stamm II (n. Pro- targolpräparaten)						
Länge (µm)	41	73...130	103.9	14.92	2.33	104.0
Breite (µm)	41	8...49.5	13.8	3.12	0.49	13.0
Länge prox. Nucleus (µm)	41	6.6...12	9.6	1.58	0.25	9.3
Breite prox. Nucleus (µm)	41	4.0...10.6	6.6	1.72	0.27	6.6
Abstand Apex—Nucleus (µm)	41	18.6...34	25.7	3.92	0.61	26.0
Abstand zw. d. Nuclei (µm)	41	2.7...11.9	6.2	2.92	0.36	6.2
Anzahl der Kineten	40	10...17	12.2	1.88	0.29	13.0

Das Entoplasma ist von der Pellicula deutlich abgetrennt (Abb. 2). Es enthält zahlreiche, etwa $2\ \mu\text{m}$ große, unregelmäßig sphaerische Mitochondrien („Zellersche Körperchen“ s. NOÏROT-TIMOTHÉE 1967) und viele $0,5\text{--}2\ \mu\text{m}$ große, stark lichtbrechende, fettig glänzende Einschlüsse. Diese sammeln sich bei absterbenden Individuen entlang der Längsachse an. Die Mitochondrien quellen dagegen stark auf und werden bis zu $8\ \mu\text{m}$ groß. Auch kommt es zu einer starken Alveolarisierung des Entoplasmas (Abb. 10).

Infraciliatur und Silberliniensystem: Während es bei anderen Opaliniden möglich ist, auf Grund des Kinetenverlaufes und der Lage der Falx eine rechte und linke Körperseite zu unterscheiden (MOHR 1940, WESSENBERG 1961, KACZANOWSKI 1973), ist dies bei *P. symphysodonis* unmöglich, da die auffallend stark spiralisierten Kineten (Abb. 3, 19, 20) in gleich steilen Windungen verlaufen und die Falx im Zentrum des proximalen Poles liegt (Abb. 22, 23). Die längsten Kineten, deren Zahl sehr variabel ist (Tab. 1), umlaufen den Körper in $3/4\text{--}1\ 1/4$ Windungen (Abb. 3, 19, 20). Etwa ein Viertel der Kineten, die bei der Falx beginnen, endet vor dem distalen Körperende (Abb. 25). Bei einigen Individuen von Stamm II beobachteten wir, daß einzelne Kineten erst kurz unterhalb der Falx beginnen (Abb. 3, Pfeil). Wenn es sich nicht um ein Artefakt handelt, ist diese Beobachtung sehr bemerkenswert, da die Falx als alleiniger Bildungsort der Kineten angesehen wird (CHATTON et al. 1936, WESSENBERG 1961). Die sehr dicht hintereinander liegenden Basalkörper werden durch ein kinetodesmales Fibrillenbündel verbunden (PITELKA 1956), das sowohl beim lebenden Tier (Abb. 9 a) als auch nach Silberimprägation (Abb. 9 b, c) zu erkennen ist. Dieses Fibrillenbündel wurde auch bei vielen anderen Opaliniden lichtmikroskopisch nachgewiesen (z. B. TEN KATE 1927, METCALF 1909).

Die Falx ist ungewöhnlich klein (Abb. 22, 23, 24, 27). Sie ist $3\text{--}6\ \mu\text{m}$ lang, $1\text{--}2\ \mu\text{m}$ breit und besteht aus wenigen, meist in Zweierreihen angeordneten Basalkörpern (Abb. 23). In schräger Aufsicht bietet sie ein charakteristisches halbmondförmiges Bild (Abb. 4, 27).

Über das Silberliniensystem der Opaliniden lag bisher nur eine kurze Beschreibung von KLEIN (1926) vor, die aber mit unseren Befunden nicht übereinstimmt, da KLEIN bei *Opalina ranarum* weder die argyrophilen Linien zwischen den Cilienreihen noch die feinen Querverbindungen beobachtete. Die Abb. 16, 17, 18 lassen erkennen, daß das Silberliniensystem von *P. symphysodonis* aus parallel zu den Wimperreihen verlaufenden Linien besteht, die untereinander durch horizontal orientierte, kleine Silberlinien verbunden werden (Abb. 9 b). Im mittleren Teil des Tieres befinden sich $10\text{--}20$ argyrophile Linien zwischen je zwei Cilienreihen. An den Körperenden werden sie durch fortgesetzte Fusion von zwei oder drei benachbarten Linien stark reduziert (Abb. 16). Das Silberliniensystem, das in gleicher Ausbildung auch bei *P. intestinalis* und *P. caudata* auftritt, besitzt also im wesentlichen denselben Verlauf wie die lebend sichtbare Pelliculastruktur (Abb. 9 a, b). Welche Strukturen sich bei den Opaliniden aber wirklich imprägnieren, ein subpelliculäres Fibrillensystem oder die Pelliculafalten, kann ohne die elektronenmikroskopische Untersuchung versilberter Individuen nicht entschieden werden (FOISSNER et al. 1975). Früher beschriebene Fibrillensysteme bei verschiedenen Opaliniden (METCALF 1909, TEN KATE 1927, HARA 1936, COSGROVE 1947, KRETSCHMAR 1963) sind auf Grund ihrer Form und Lagebeziehung vermutlich nicht

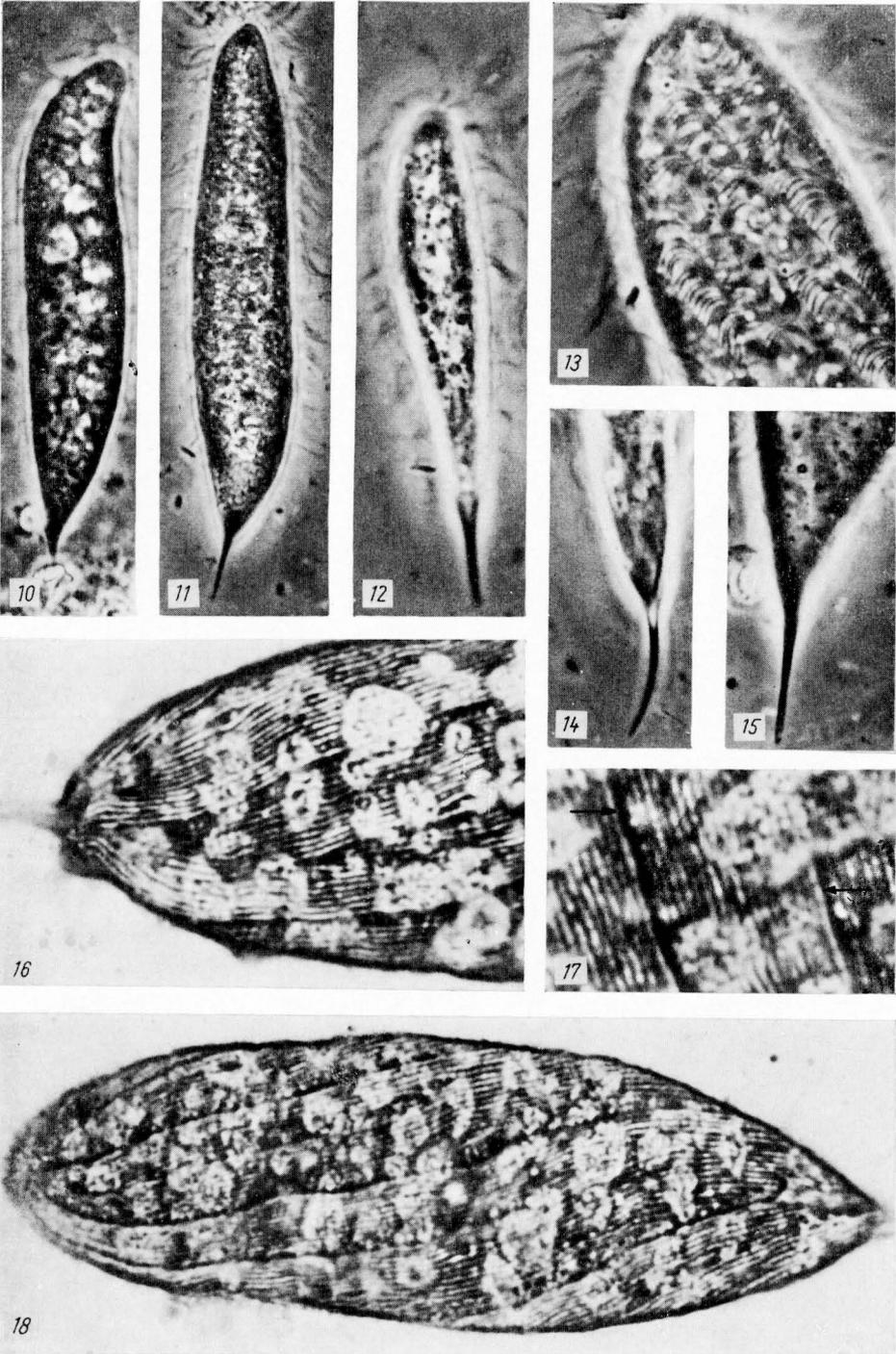


Abb. 10–15. *P. symphysodonis* (Stamm II). Lebendaufnahmen leicht gepresster Individuen. Der unbewimperte „Stachel“ ist gut erkennbar
 Abb. 16–18. *P. symphysodonis* (Stamm I). Silbernitratimpregnationen, die das Silberliniensystem und die Wimperreihen (Pfeile) zeigen

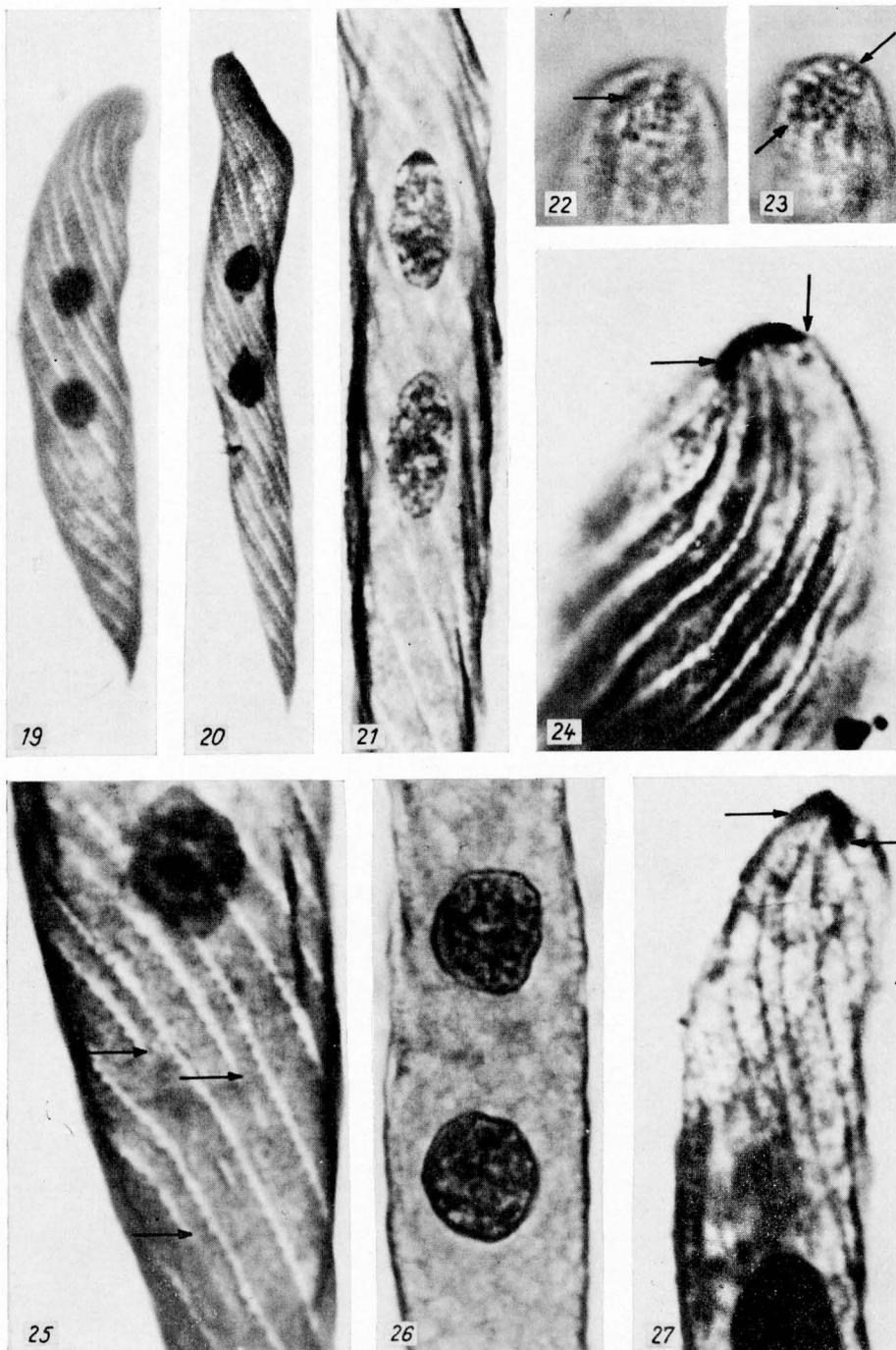


Abb. 19, 20, 21, 25, 26. *P. symphysodonis* (Stamm II). Diese Protargolimprägationen zeigen sehr schön den stark spiraligen Verlauf der Kineten und die Variabilität der Form des Nucleus. Der Pfeile in Abb. 25 weisen auf verkürzte Kineten im distalen Teil des Tieres

Abb. 22, 23, 24, 27. *P. symphysodonis* (Stamm II). Protargolimprägationen der Falx (Pfeile) in Aufsicht (22, 23) und Seitenansicht (24, 27)

mit dem hier beschriebenen Silberliniensystem identisch. Aufmerksam gemacht sei auf die auffallende Ähnlichkeit dieses Silberliniensystems mit dem der Euglenophyceen (FOISSNER 1977).

Biometrische Untersuchungen: Wegen der bei den Opaliniden besonders schwierigen Speciesidentifikation wurde auch eine genaue biometrische Analyse durchgeführt. Werden Arten durch meßbare Parameter charakterisiert, die um einen Mittelpunkt streuen, sind Zahlenangaben ohne Beifügung von Streuungsmaßen oft wenig sinnvoll. Speziell für Opaliniden hat EARL (1969) darauf hingewiesen und Daten zusammengestellt. Um späteren Bearbeitern einen Vergleich zu ermöglichen, folgen wir weitgehend seiner Darstellungsweise. Einige kritische Hinweise und Ergänzungen sind aber notwendig.

Die übliche Berechnung von Korrelationskoeffizienten und Regressionskurven setzt voraus, daß die Meßwerte als normal verteilt angesehen werden können. Es bleibt auch stets zu fragen, ob eine sich mathematisch ergebende Korrelation logisch gedeutet werden kann oder nicht. EARL (1969) bemerkt, daß die Annahme der Normalverteilung für die von ihm benutzten Meßdaten, „vielleicht spekulativ“ sei. Wir haben versucht zu überprüfen, ob die von uns gewonnenen Meßdaten annähernd als normal verteilt angesehen werden dürfen. Ein exakter Test auf Normalverteilung ist freilich nicht bekannt. Von den verschiedenen vorgeschlagenen Hilfsmethoden wählten wir den Test von DAVID et al. (1959), da er uns am maschinenfreundlichsten erschien. Für die Daten, für die mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von größer als 10% eine Normalverteilung abgelehnt werden mußte, wurde die Summenkurve in das Wahrscheinlichkeitsnetz eingezeichnet und danach beurteilt, ob eine Normalverteilung angenommen werden kann (Die Summenkurve einer Normalverteilung ist in diesem Netz eine Gerade!).

Dabei ergab sich, daß die Länge der untersuchten Tiere, unabhängig von der Präparationsmethode, nicht als normal verteilt angesehen werden kann. Die Summenkurven im Wahrscheinlichkeitsnetz waren deutlich sigmoid gebogen. Dieses Ergebnis ist zu erwarten. Tiere, die z. B. eben aus einer Querteilung hervorgegangen sind, müssen kürzer sein als solche, die kurz vor einer Teilung stehen. Eine Normalverteilung könnte sich unter diesen Umständen nur unter zwei Voraussetzungen ergeben. Erstens müßten alle „Altersstadien“ zum Zeitpunkt der Untersuchung respektive Fixierung gleich häufig sein. Es dürfte also keinerlei Beeinflussung der Teilungswahrscheinlichkeit durch wechselnde Umweltfaktoren, wie z. B. Freßgewohnheiten, Ruhe- und Aktivitätsperioden des Wirtes etc., auftreten. Zweitens müßte die Länge der Tiere der Zeit, die seit der letzten Teilung verstrichen ist, proportional sein. Es dürfte also z. B. nicht vorkommen, daß sie nach Erreichen der Maximalgröße eine Zeit auf dieser Länge stehen bleiben, bevor der nächste Teilungsvorgang einsetzt. Das Vorliegen der ersten Voraussetzung ist unwahrscheinlich (McCONNACHE 1960), die zweite ist sicher nicht gegeben.

Die Breite der Tiere konnte dagegen nach den von uns verwandten Kriterien als normal verteilt angesehen werden. Das erscheint plausibel, wenn man annimmt, daß sich *P. symphysodonis* hauptsächlich durch Querteilung, die aber bei den Opaliniden häufig mit einer Längsteilung abwechselt (WESSENBERG 1961), vermehrt. Interessant ist es, zu prüfen, welche der übrigen festgestellten Meßwerte als normal verteilt angesehen werden dürfen und welche nicht. Die Abstände zwischen Apex und vorderem Nucleus und zwischen den Nuclei ergaben Normal-

verteilungen nach dem oben ausgeführten, also keine Abhängigkeit vom Wachstum. Länge und Breite des Nucleus und die Anzahl der Kineten wichen dagegen stark von der Normalverteilung ab. Es erscheint demnach sowohl aus mathematisch-methodischen wie auch aus logischen Gründen nicht sinnvoll, Korrelationskoeffizienten und Regressionsgeraden zu berechnen. Für letztere ergibt sich außerdem die Schwierigkeit, welcher Wert als abhängig und welcher als unabhängig betrachtet werden soll. Wenn wir hier trotz der geäußerten Bedenken Zahlen angeben (Tab. 2), so geschieht dies, um wenigstens einen ungefähren Vergleich mit den Daten von EARL (1969) zu ermöglichen. Ein systematischer (oder gar physiologischer) Sinn darf den Werten aber nicht beigemessen werden.

Tabelle 2. Korrelationskoeffizienten zu den Meßwerten in Tabelle 1.
Korrigiert nach OLKIN et al. (1958)

	<i>n</i>	<i>r</i>	<i>t</i>
Stamm I (n. Silbernitratpräparaten)			
Länge : Breite	23	0.58	3.26
Stamm II (<i>in vivo</i>)			
Länge : Breite	12	0.80	4.23
Stamm I (n. Protargolpräparaten)			
Länge : Breite	41	0.42	2.84

Für systematische Zwecke sollten nur Werte benutzt werden, die normal verteilt und möglichst rein genetisch bedingt sind, also wenig oder nicht von der Umwelt abhängen. In diesem Zusammenhang sei noch auf eine andere Bemerkung EARLS eingegangen. Er sah, daß Länge und Breite von zwei Stämmen, die sicher (?) zur gleichen Art gehörten, bei Anwendung des *t*-Testes nach STUDENT mit einer an Sicherheit grenzenden Wahrscheinlichkeit ($t = 7,79$ und $t = 8,04$ bei $n = 50$) zu zwei verschiedenen Gesamtheiten gehört. EARL (1969) erhob nun die Forderung, für die Trennung von Arten höhere *t*-Werte zu fordern. Das ist nicht sinnvoll. Ein kleinerer Fehler zweiter Art bedingt einen größeren Fehler erster Art und umgekehrt! EARLS Proben gehörten eben zu zwei verschiedenen Grundgesamtheiten; die Unterschiede waren nur wahrscheinlich nicht (direkt) genetisch bedingt, sondern stark umweltbeeinflußt.

Sollte die große Längen- und Breitenvariabilität auch für andere Opaliniden gelten (bei EARL handelte es sich vermutlich um *O. virguloidea*), müßte nach anderen weniger wachstumsabhängigen Parametern gesucht werden. Es wurden für Stamm II (Salzburg) die Korrelationskoeffizienten zwischen sämtlichen gemessenen Parametern berechnet. Bei keinem ergaben sich Werte oder Verteilungen, die eine strengere lineare oder auch eine Korrelation höherer Ordnung vermuten lassen.

Die starken Streuungen der Korrelationskoeffizienten in Tab. 2 zeigen, auch bei Berücksichtigung der verschiedenen Präparationsmethoden, die Sinnlosigkeit einer solchen Berechnung.

Ökologie: *P. symphysodonis* wurde bisher nur im Rectum von jungen, 3...5 cm großen Exemplaren von *Symphysodon aequifasciata* (PELLEGRIN 1903) gefunden.

Der genaue Herkunftsort der in Südamerika beheimateten Fische konnte von den Händlern nicht in Erfahrung gebracht werden. Die Tiere von Stamm I (Stuttgart) sind aber sicher Ostasien-Nachzuchten. Es kann daher nicht ausgeschlossen werden, daß die Infektion sekundär ist. Erwachsene Tiere konnten wegen des hohen Preises bisher nicht untersucht werden.

Die Infektiosität des Parasiten ist vermutlich nicht sehr hoch. Aus verdächtigen Beständen waren von 30...40 Exemplaren meist nur ein oder zwei Tiere infiziert. Selten fand sich ein Massenvorkommen und eine beinahe 100%ige Infektion eines Bestandes. Über die Wirkung des Parasiten konnte bisher keine völlige Klarheit erzielt werden, da häufig eine Mischinfektion mit *Spironucleus (Hexamitus) symphysodonis* vorlag. Bei den Wirten aus einer Tierhandlung in Salzburg lag allerdings eine reine und sehr starke Infektion vor. Nur ein Fisch war noch zusätzlich mit *Nyctotherus sp.* befallen. Da alle Tiere dieses Bestandes eingegangen sind, ohne daß eine andere Todesursache festgestellt werden konnte, liegt der Verdacht nahe, daß *P. symphysodonis* bei einem Massenvorkommen eine letale Wirkung ausübt. Die befallenen Fische waren bräunlich verfärbt und ihr Bauch war aufgetrieben.

Die histologischen Untersuchungen des Enddarmes stark befallener Wirte brachte keine Hinweise dafür, daß die Darmschleimhaut durch sie beschädigt wird. Man erkennt, daß der Parasit mit Hilfe seines stachelartiges Fortsatzes tief zwischen die einzelnen Villi eindringt, bis in die äußersten Falten. Dies kann man auch an freipräparierten Exemplaren beobachten, bei denen man gut sieht, daß sie sich mit dem „Stachel“ in die Darmfalten hineinbohren.

Soweit wir wissen, ist eine Bekämpfung des Parasiten nur mit gegen Flagellaten wirksamen Mitteln möglich. Bisher hat sich, ohne daß systematische Versuche vorliegen, Metronidazol bewährt.

D i s k u s s i o n

Auf die bei den Opaliniden mit klassischen Methoden besonders schwierige Speciesidentifikation wurde von vielen Autoren hingewiesen (z. B. EARL 1973, SANDON 1976). Daher ist es ein großer Nachteil, daß erst ein Bruchteil der beschriebenen Arten mit modernen taxonomischen Methoden, besonders Silberimprägnationsverfahren, untersucht worden ist. Wir halten deshalb die von AMARO (1966 a) vorgenommene Auftrennung der Gattungen *Protoopalina*, *Zelleriella*, *Opalina* und *Cepedea* in viele Untergattungen für verfrüht (SANDON 1976), weil dafür ausreichende Grundlagen fehlen und so die Gefahr besteht, ein künstliches System zu schaffen.

Um zu prüfen, in welchem Ausmaß die Infraciliatur bei den Protoopalinen zur Speciesidentifikation eingesetzt werden kann, haben wir zwei in Anuren vorkommende Arten, *P. caudata* und *P. intestinalis* untersucht. Wie die Abb. 28, 30, 31 klar erkennen lassen, weicht ihre Infraciliatur stark von der bei *P. symphysodonis* beschriebenen ab. Auffällig ist die lange und breite (30...35 × 3...7 µm) Falx dieser zwei Arten. Eine so kleine Falx wie sie *P. symphysodonis* besitzt, war bisher unbekannt. Ihr Aufbau gleicht aber grundsätzlich dem anderer Opaliniden (FERNÁNDEZ-GALLIANO 1947, WESSENBERG 1961, KACZANOWSKI 1970). Zumindest die relative Größe der Falx dürfte unabhängig vom Entwicklungszyklus sein, da die

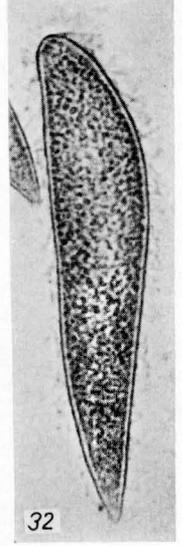
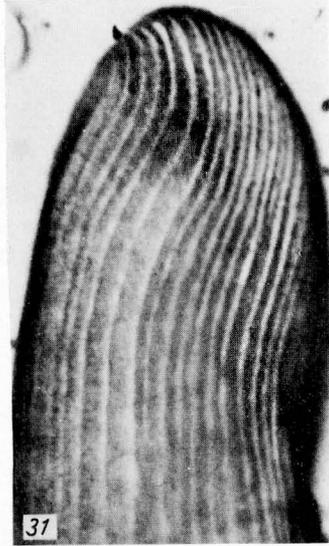
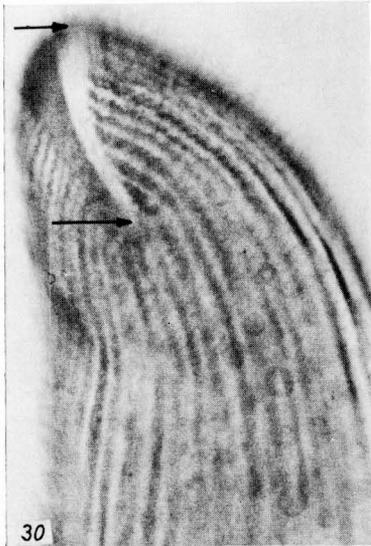
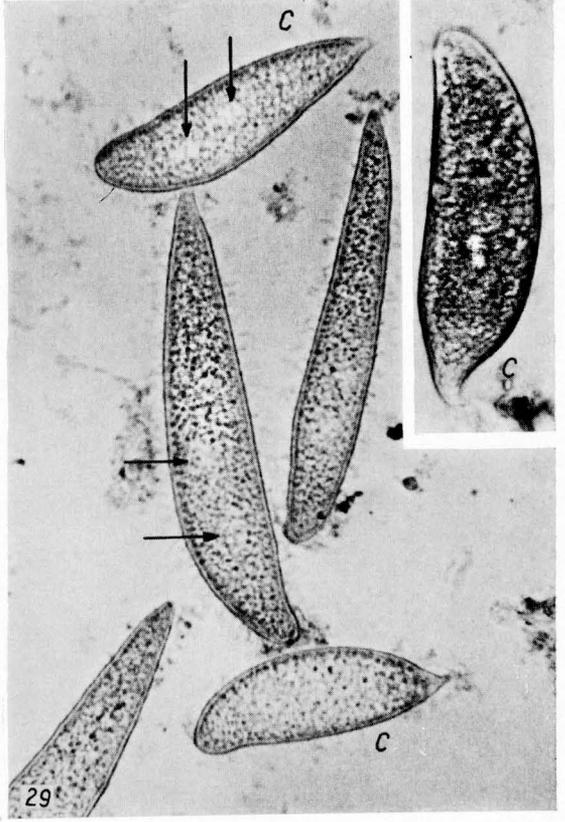


Abb. 28. *Protoopalina caudata*. Protargolimprägation. Die Pfeile weisen auf die Falx, deren Basalkörper nicht imprägniert sind
 Abb. 29, 32. Hellfeldaufnahmen lebender *P. intestinalis* und *P. caudata* (C). Die Pfeile weisen auf die zwei Teile des Nucleus
 Abb. 30, 31. Rechts- und linkslaterale Ansichten des proximalen Körperbereiches von *P. intestinalis* nach Protargolimprägation. Die Pfeile weisen auf die Falx

Protrophonten von *Opalina virguloidea*, die in Form und Größe *P. symphysodonis* recht ähnlich sind, die lange Falx des Trophonten behalten (WESSENBERG 1961). Ein weiteres abweichendes Merkmal ist die weniger ausgeprägte Spiralisierung der Kineten (vgl. Abb. 19, 20 mit Abb. 28, 30). Die Anzahl der Kineten ist allgemein sehr variabel (WACH 1953) und vom Entwicklungsstadium abhängig (WESSENBERG 1961). Vergleicht man jedoch bestimmte Entwicklungsstadien, z. B. die Trophonten verschiedener Arten (z. B. *P. intestinalis* mit *P. symphysodonis*), so zeigen sich klare Unterschiede, die im Verein mit anderen Merkmalen sicher zur Speciesdetermination herangezogen werden sollten. Daß aber allein mit Hilfe der Infraciliatur eine Determination nicht oder wohl nur sehr selten möglich ist, zeigen die beiden Arten *P. caudata* und *P. intestinalis*. Obwohl sie *in vivo* durch ihre unterschiedliche Körperform und Größe (Abb. 29, 32) leicht zu unterscheiden sind, zeigen sich in der Infraciliatur keine signifikanten Unterschiede. Die Falx (s. oben) und die Anzahl der Kineten sind sich sehr ähnlich. Bei *P. caudata* zählten wir im Bereich der Falx durchschnittlich 63 ($n = 10$, Extremwerte 57...70) und bei *P. intestinalis* 54 ($n = 10$, Extremwerte 40...70) Kineten.

P. symphysodonis gehört zu jener Artengruppe, die durch einen mehr oder minder langen, distalen Körperfortsatz gekennzeichnet ist (METCALF 1940, AMARO 1966 b). Innerhalb dieser Gruppe gleicht sie am meisten den drei von METCALF (1923) beschriebenen Arten *P. xenopodus*, *P. nutti* und *P. stevensoni*. Besonders *P. xenopodus*, die allerdings nur nach schlecht fixiertem Material beschrieben worden ist, gleicht in Körper- und Kernform sehr unserer Art. Die Anzahl der Kineten wird von WESSENBERG (1961) mit etwa 17 in Tiermitte angegeben, fällt also in den oberen Bereich von *P. symphysodonis*. Möglicherweise wird aber ein genaueres Studium der Infraciliatur, besonders der Falx, über die WESSENBERG (1961) leider keine Angaben machte, abweichende Merkmale zu Tage fördern. Derzeit kann als einziges Unterscheidungsmerkmal nur der Wirt angeführt werden. Obwohl die Wirtsspezifität der Opaliniden nach einigen Untersuchungen nicht besonders groß ist (METCALF 1909, ORDEN 1926, LAVIER 1936, DELPHIN et al. 1972), halten wir es doch für sehr unwahrscheinlich, daß die gleiche Art sowohl in Fischen als auch Anuren vorkommen kann (SANDON 1976), zumal die geographische Verbreitung von *Xenopus* eine ganz andere als von *Symphysodon* ist.

Verhältnismäßig sicher ist *P. symphysodonis* von den zwei aus Fischen beschriebenen Protoopalinen zu trennen, obwohl keine näheren Angaben über die Falx dieser Arten vorliegen. Von *P. saturnalis* (LEGER et al. 1904) unterscheidet sie sich durch die Körpergröße, die am ganzen Körper gleich langen Cilien und das Fehlen von großen peripheren Vakuolen. Das abweichende Längen-Breitenverhältnis, der längere „Stachel“ und die gleich langen Cilien unterscheiden sie von *P. dubosequi* (LAVIER 1936).

Z u s a m m e n f a s s u n g

Die Morphologie, Infraciliatur und das Silberliniensystem von *Protoopalina symphysodonis* nov. spec. wurde mit verschiedenen Methoden (Lebendbeobachtung, Silbernitrat- und Protargolimprägnation) untersucht. *P. symphysodonis* lebt im Enddarm des Süßwasserfisches *Symphysodon aequifasciata* Pellegrin und ist die vierte in Fischen nachgewiesene Opalinidenspecies. Eine lichtmikroskopisch erkennbare Schädigung des Darmepithels des Wirtes erfolgt nicht, jedoch starben fast alle infizierten Tiere ab. Eine Bekämpfung ist mit gegen Flagellaten wirksamen Mitteln möglich. Vergleichende Untersuchungen der Infraciliatur von *P. caudata* und

P. intestinalis zeigten, daß *P. symphysodonis* durch eine ungewöhnlich kleine Falx und stärker spiralisierte Kineten von diesen Arten abweicht. Die statistische Analyse verschiedener Parameter (Länge, Breite usw.) zeigte, daß es sinnlos ist, Korrelationskoeffizienten zu berechnen und nur wenige Parameter als normal verteilt angesehen werden können.

In der Diskussion wird auf die Notwendigkeit einer näheren Kenntnis der Infraciliatur und deren Wert für die Taxonomie der niederen Kategorien hingewiesen.

Dank s a g u n g

Mit dankenswerter Unterstützung des Fonds zur Förderung der wissenschaftlichen Forschung (Projekt 3208), der Jubiläumsstiftung der Österreichischen Nationalbank, der Gesellschaft zur Förderung der Hochschule für Bodenkultur und der Deutschen Forschungsgemeinschaft.

L i t e r a t u r

- AMARO, A.: Chave prática para a determinação das subfamílias, gêneros e subgêneros da família „Opalinidae“ Claus, 1874 (Sarcomastigophora, Opalinata). Atas Soc. Biol. Rio de Janeiro **40** (1966 a) 49—52.
- : Sobre a sistemática de família „Opalinidae“ Claus, 1874 (Sarcomastigophora, Opalinata). I Nota: Gênero „Protoopalina“ Metcalf, 1918. Atas Soc. Biol. Rio de Janeiro **40** (1966 b) 23—24.
- BLANCKART, S.: Die Oberflächenstrukturen von *Paramecium* sp. und *Opalina ranarum*. Z. wiss. Mikrosk. **63** (1957) 276—287.
- CHATTON, E., et S. BRACHON: Le cinétome de l'*Opalina ranarum*, sa continuité génétique et son importance en égard à l'évolution des appareils ciliaires. C. R. Acad. Sci., Paris **202** (1936) 713—716.
- COSGROVE, W. B.: Fibrillar structures in *Opalina obtrigonoidea* Metcalf. J. Parasitol. **33** (1947) 351—357.
- DA CUNHA, A. M., et J. C. N. PENIDO: Nouveau protozoaire parasite des poissons: *Zelleriella piscicola* n. sp. C. R. Soc. Biol., Paris **95** (1926) 1003—1005.
- DAVID, H., H. O. HARTLEY, and E. S. PEARSON: The distribution of the ratio, in a single sample, of range to standard deviation. Biometrika **41** (1959) 482—493.
- DELPHIN, F., K. KYI, and K. M. Oo: A preliminary report on Burmese protociliates. U. Burma J. Life Sci. **5** (1972) 235—250.
- EARL, P. R.: Rudimentary opalinid protozoan dimensions. Rev. Bras. Biol. **29** (1969) 255—264.
- : Suppressions and other taxonomic changes in the protozoan subphylum Opalinata. Publ. Biol. Inst. Inv. Cient. UANL, Mexico **1** (1973) 25—33.
- FERNÁNDEZ-GALIANO, D.: Observaciones citológicas sobre las opalinas. Trab. Inst. Cienc. Nac., Madrid, Biol. **1** (1947) 349—422.
- FOISSNER, W.: Erfahrungen mit einer trockenen Silberimprägnationsmethode zur Darstellung argyrophiler Strukturen bei Protisten. Verh. Zool.-Bot. Ges., Wien **115** (1976) 68—79.
- : Comparative light- and electronmicroscopical studies on the argyrophilic structures of *Euglena viridis*. Acta biol. Acad. hung. **28** (1977) 157—174.
- , und P. SIMONSBERGER: Elektronenmikroskopischer Nachweis der subpelliculären Lage des Silberliniensystems bei *Colpidium colpoda* (Ciliata, Tetrahymenidae). Protoplasma **86** (1975) 65—82.
- HARA, Y.: On the neuromotor system and some other morphological characteristics of *Protoopalina axonucleata* Metcalf. Sci. Reports Tokyo Bunrika Daigaku, Se. B **3** (1936) 41—51.
- KACZANOWSKI, A.: Morphological studies on Opalinids. I. Staining and fragmentation of the pellicle of *Opalina ranarum*. Acta Protozool. **7** (1970) 205—209.
- : Morphological studies on Opalinids. II. Cortical patterns in *Opalina ranarum*. Acta Protozool. **12** (1973) 29—52.
- KLEIN, B. M.: Ergebnisse mit einer Silbermethode bei Ciliaten. Arch. Protistenkd. **56** (1926) 243—279.
- KRETSCHMAR, W.: Untersuchungen über den Zellbau von *Opalina ranarum* zur systematischen Stellung der Opaliniden. Z. Parasitenkd. **23** (1963) 274—308.

- LAVIER, G.: *Protoopalina duboscqui* n. sp. opaline parasite d'un poisson marin. Ann. Parasitol. **14** (1936) 272—277.
- LÉGER, L., and O. DUBOSCQ: Notes sur les infusoires endoparasites. III. *Opalina saturnalis*. Arch. Zool. Expér. Gén. **4** (1904) 343—356.
- MCCONNACHIE, E.: Experiments on the encystation of *Opalina* in *Rana temporaria*. J. Parasitol. **50** (1960) 171—181.
- METCALF, M. M.: *Opalina*. Its anatomy and reproduction, with a description of infection experiments and a chronological review of the literature. Arch. Protistenkd. **13** (1909) 195—375.
- : The classification of the Opalinidae. Science U. S. **52** (1920) 135—136.
- : The opalinid ciliate infusorians. Bull. U. S. Nat. Mus. **120** (1923) 1—484.
- : Further studies on the opalinid ciliate infusorians and their hosts. Proc. U. S. Nat. Mus. **87** (1940) 465—634.
- MOHR, J. L.: On the orientation of opalinids. J. Parasitol. **26** (1940) 236—238.
- NOIROT-TIMOTHÉE, C.: Présence simultanée de deux types de vésicules de micropinocytose chez *Cepedea dimidiata* (Protozoa, Opalinina). C. R. Acad. Sci., Paris **263** (1966) 1230—1233.
- : Étude au microscope électronique des inclusions cytoplasmiques de *Cepedea dimidiata* (Protozoa, Opalinina) et plus spécialement des mitochondries ou corps de Zeller. Protistologica **3** (1967) 301—312.
- OLKIN, I., and J. W. PRATT: Unbiased estimation of certain correlation coefficients. Ann. Math. Statist. **29** (1958) 201—211.
- ORDEN, F., and T. C. NELSON: On specificity of *Opalina* in the frog. Proc. Soc. Exper. Biol. Med. **24** (1926) 253—255.
- PITELKA, D. R.: An electron microscope study of cortical structures of *Opalina obtrigonoidea*. J. Biophys. Biochem. Cytol. **2** (1956) 423—432.
- SANDON, H.: Opalinids from Nile fish. Nature, London **164** (1949) 410.
- : The species problem in the opalinids (Protozoa, Opalinata), with special reference to *Protoopalina*. Trans. Amer. Micros. Soc. **95** (1976) 357—366.
- SCHMEIER, U.: Eine qualitative und quantitative Bestandsaufnahme der Opalinen und Ciliaten im Intestinum mitteleuropäischer Amphibien. Diplomarbeit Univ. Bonn. 1976.
- SCHUBERT, G.: Wie krank sind unsere Diskusfische. Aquarienmagazin **9** (1972) 390—393.
- TEN KATE, C. G. B.: Über das Fibrillensystem der Ciliaten. Arch. Protistenkd. **57** (1927) 362—426.
- TZE-TUAN CHEN: Chromosomes in Opalinidae (Protozoa, Ciliata) with special reference to their behavior, morphology, individuality, diploidy, haploidy, and association with nucleoli. J. Morphol. **83** (1948) 281—318.
- WACH, T.: Investigations on the populations of opalinata in the intestine of the native frogs. Acta Parasitol. Pol. **1** (1953) 259—290.
- WESSENBERG, H.: Studies on the life cycle and morphogenesis of *Opalina*. Univ. Calif. Publ. Zool. **61** (1961) 315—370.
- : Observations on the cortical ultrastructure in *Opalina*. J. Microscopy **5** (1966) 471—492.
- WILBERT, N.: Eine verbesserte Technik der Protargolimpregnation. Mikrokosmos **6** (1975) 171—179.

WILHELM FOISSNER, Zoologisches Institut der Universität Salzburg, Akademiestraße 26, A-5020 Salzburg (Austria)

Dr. GOTTFRIED SCHUBERT, Institut für Allgemeine und Systematische Zoologie der Universität Hohenheim, D-7000 Stuttgart-Hohenheim (BRD)

Dr. NORBERT WILBERT, Zoologisches Institut der Universität Bonn, D-5300 Bonn (BRD)