

Estudos citologicos sobre o "Trypanosoma Chagasi" n. sp. encontrado em peixes do genero Plecostomus

PELOS

Dr. Paulo Horta e Astrogildo Machado.

(Com a estampa 19)

Zytologische Studien ueber "Trypanosoma Chagasi" n. sp. aus Fischen des Genus Plecostomus

VON

Dr. Paulo Horta e Astrogildo Machado.

(Mit Tafel 19)

Introdução. — Em nota preliminar publicada no *Brazil-Medico* de 22 de Julho de 1910 um de nós (HORTA) deu uma descrição rapida de um novo tripanozomo de peixe de agua doce, que haviamos encontrado no estudo que fizemos dos parasitos dos peixes de MENDES, localidade do Estado do RIO DE JANEIRO, situada na Serra do Mar.

Entre os peixes mais facilmente encontrados nos pequenos riachos que serpeiam entre as ruas de MENDES destacam-se pela sua forma bizarra e pela facilidade com que se podem conservar longas horas fóra d'agua, os *casquados*, assim denominados pela forte rezistencia que apresenta sua contextura externa. É muito facil obter grande numero desses peixes, procurando entre as pedras dos corregos, ás quaes se fixam elles por meio duma poderoza ventosa bucal.

Einleitung. — In einer vorläufigen Mitteilung, welche einer von uns (HORTA) im « Brazil-Medico » von 22. Juli 1910 publizierte, wurde ein neues Trypanosoma aus einem Süßwasserfische kurz beschrieben; dasselbe wurde bei den Studien gefunden, welche wir über die Parasiten der Fische von MENDES anstellten. Dieser Ort liegt in der Serra do Mar, im Staate RIO DE JANEIRO.

Unter den Fischen, welchen in den, zwischen den Strassen von Mendes fließenden, Bächen leicht zu fangen sind, zeichnen sich die sogenannten *Casquados* durch ihre eigentümliche Form und die Leichtigkeit, mit welcher sie sich ausser dem Wasser stundenlang lebend erhalten, besonders aus; ihr Name bedeutet hartschalig und bezieht sich auf die grosse Härte ihrer Hautdecke. Man erhält sie leicht in grosser Zahl von den Steinen der Wasserläufe, an welche sie sich mit einem kräftigen Mundsaugnapfe fixieren.

Enviados alguns exemplares ao Snr. RODOLPHO VON IHERING, do Museu Paulista de S. Paulo, que se tem occupado com o estudo dos peixes de agua doce do Brazil, tivemos o prazer de receber sua classificação, tratando-se de exemplares de *Plecostomus punctatus* CUV. & VAL., da familia *Loricaridae* (*Nematognatha*); não foi somente nesta especie de *Plecostomus* que encontramos tripanozomos, mas tambem em outras especies muito proximas, apresentando-se os parasitos destas especies com aspetos muito semelhantes ao que ora estudamos e assim nos rezervamos para mais tarde fazer um estudo sobre os tripanozomos das outras especies de *Plecostomus*. O Snr. RODOLPHO VON IHERING diz que a ordem dos *Nematognatha* contribue com cerca de 300 especies para a ictiofauna dos rios do Brazil.

Encontramos o *Trypanosoma Chagasi* constantemente no sangue do *Plecostomus punctatus*, quer em MENDES, quer em BENJAMIN CONSTANT, no Estado de MINAS GERAES; o Dr. ALMADA HORTA encontrou-o no *Plecostomus* de JUIZ DE FÓRA, tambem neste Estado. O Dr. VITAL BRAZIL teve a gentileza de nos enviar preparados de sangue de peixes desta mesma especie, provenientes de S. PAULO, onde era visto, ainda que raramente, o mesmo tripanozomo. Parece que a infeção dos *casquados* de S. PAULO não só não é tão frequente, como, quando existe, não é tão abundante quanto a que observámos nos Estados do RIO e MINAS; comprova esta asserção o fato de não terem sido vistos tripanozomos no sangue de *casquados* de S. PAULO, examinados pelo Dr. CARLOS BOTELHO JUNIOR, conforme consta de sua comunicação á *Société de Biologie de Paris*, em 6 de Julho de 1907.

O *Trypanosoma Chagasi* apresenta-se em muito maior numero na circulação periferica do *Plecostomus* durante os mezes mais frios do inverno, havendo notavel diminuição em seu numero durante o verão. Tambem se nota que nos exemplares ainda muito jovens ha muito maior riqueza na infeção, que nos exemplares adultos.

Wir sandten einige Exemplare an Hrn. RUDOLPH VON IHERING vom Museum in São Paulo, welcher sich mit dem Studium der brasilianischen Süßwasserfische befasst hat. Nach der Bestimmung, die wir ihm verdanken, handelte es sich um *Plecostomus punctatus* CUV. & VAL., aus der Familie *Loricaridae* (*Nematognatha*). Trypanosomen fanden wir nicht nur in dieser *Plecostomus*art, sondern auch in anderen nahe verwandten Spezies; die Parasiten der letzteren erschienen den hier studierten sehr ähnlich, wir reservieren aber das Studium der Trypanosomen der anderen *Plecostomus*arten für eine spätere Gelegenheit. Hr. R. VON IHERING giebt an, dass die Ordnung der *Nematognatha* in der Fischfauna der brasilianischen Flüsse mit ca. 300 Arten vertreten ist.

Wir fanden das *Trypanosoma Chagasi* konstant im Blute des *Plecostomus punctatus*, sowohl in MENDES, als in BENJAMIN CONSTANT im Staate MINAS; Dr. ALMADA HORTA fand es in Individuen aus JUIZ DE FÓRA im selben Staate. Dr. VITAL BRAZIL war so freundlich, uns aus SÃO PAULO Blutpräparate von Fischen derselben Art zu senden, in welchen, wenn auch nur selten, dasselbe Trypanosoma zu sehen war. Es scheint, dass in S. PAULO die Infection bei den *Casquados* nicht nur weniger häufig, sondern auch, wenn sie vorkömmt, weniger intensiv ist. Diese Auffassung wird auch dadurch bestätigt, dass, wie Dr. CARLOS BOTELHO JUNIOR in einer Mitteilung an die *Société de Biologie* in Paris (am 6ten Juli 1907) angab, im Blute der von ihm untersuchten *Casquados* keine Trypanosomen gesehen wurden.

Das *Trypanosoma Chagasi* erscheint während der kalten Wintermonate in weit grösserer Zahl in der peripherischen Zirkulation der Plecostomen, während im Sommer ihre Zahl bedeutend abnimmt. Man bemerkt auch, dass bei noch sehr jungen Individuen die Infection weit stärker ist, als bei ausgewachsenen Exemplaren.

Para se obter sangue deste peixe o meio mais simples é puncionar diretamente o coração com uma pipeta fina, penetrando-se através das branquias.

No presente trabalho apenas nos ocuparemos com o estudo citológico da divisão do núcleo principal do *Trypanosoma Chagasi*, reservando-nos para ulteriormente nos estendermos sobre seu ciclo evolutivo completo.

Procurámos, com grande empenho, obter culturas d'elle, puncionando asepticamente o coração e colocando o sangue no meio de NOVY e MAC-NEAL; foram infructíferas, porém, nossas tentativas.

Em outros peixes de água doce do Brazil têm sido encontrados tripanozomos. Assim é que C. BOTELHO JUNIOR em comunicação á *Société de Biologie de Paris* descreveu dois tripanozomos de peixes: o *Tr. rhambdiae* e o *Tr. macrodonis*, o primeiro da *Rhambdia quelen* (bagre) e o segundo do *Macrodon malabaricus* (traira).

SPLENDRE publicou na Revista da Sociedade Scientifica de S. Paulo, em 1910, a descrição do *Tr. hypostomi*, visto no sangue do *Hypostomus auroguttatus*.

Todos estes trez tripanozomos são descritos de peixes de S. PAULO e nos exemplares de *Rhambdia quelen* e de *Macrodon malabaricus*, provenientes de MENDES, por nós examinados, não tivemos oportunidade de os encontrar. Ambos os autores mencionam, porém, serem, não só pouco numerosos os exemplares infetados, como raros os tripanozomos vistos. De fato, BOTELHO encontrou duas vezes o *Tr. rhambdiae* em 40 exemplares de peixes examinados e SPLENDORE verificou a presença do *Tr. hypostomi* apenas, em dous dentre os 21 hipostomios pesquisados. O *Trypanosoma hypostomi* é de pequenas dimensões e muito raro (1—2 por preparado). Os tripanozomos *rhambdiae* e *macrodonis* se caracterizam por não possuírem flajelo livre, segundo BOTELHO.

Exame a fresco do TRYPANOSOMA CHAGASI:

O exame no estado vivo do *Trypanosoma Chagasi* é facilmente feito, dada a sua constancia e abundancia no sangue dos

Das einfachste Verfahren, um das Blut dieses Fisches zu gewinnen, ist die Herzpunktion mittelst feiner Pipette durch die Kiemen hindurch.

In dieser Arbeit werden wir uns nur mit dem zytologischen Studium der Teilung des Hauptkernes bei *Trypanosoma Chagasi* befassen und ein Eingehen auf den ganzen Entwicklungszyklus auf spätere Zeit versparen.

Wir haben uns sehr bemüht, Kulturen zu erhalten, indem wir das — durch Punktion aseptisch dem Herzen entnommene — Blut auf den Nährboden von NOVY und MAC-NEAL übertrugen; doch blieben unsere Versuche erfolglos.

Es sind schon bei anderen brasilianischen Süßwasserfischen Trypanosomen gefunden worden. So beschrieb C. BOTELHO JUNIOR in seiner Mitteilung an die *Société de Biologie* in Paris zwei Fischtrypanosomen, *Tr. rhambdiae* und *Tr. macrodonis*, das erste von *Rhambdia quelen* und das zweite von *Macrodon malabaricus*.

SPLENDRE veröffentlichte in der *Revista da Sociedade Scientifica de S. Paulo* 1910 die Beschreibung von *Tr. hypostomi*, welches im Blute von *Hypostomus auroguttatus* erscheint.

Alle diese Trypanosomen wurden aus Fischen von S. PAULO beschrieben und es gelang uns nicht, sie in den von uns untersuchten Individuen von *Rhambdia quelen* und *Macrodon malabaricus* aus MENDES aufzufinden. Uebrigens führen beide Autoren an, dass nicht nur die infizierten Exemplare, sondern auch die beobachteten Trypanosomen wenig zahlreich sind. So fand BOTELHO das *Tr. rhambdiae* zweimal unter 40 untersuchten Fischen und SPLENDORE das *Tr. hypostomi* zweimal unter 21 Individuen; letzteres ist klein und selten, 1-2 in jedem Präparate. Die Trypanosomen von *Rhambdia* und *Macrodon* sind nach BOTELHO durch den Mangel einer freien Geißel charakterisiert.

Untersuchung des Trypanosomas Chagasi im Leben:

Das *Trypanosoma Chagasi* lässt sich leicht lebend untersuchen, da es im Blute der *Cascudos* beständig und reichlich

casquados. Distinguem-se perfeitamente duas formas: uma alongada, fina; outra larga e curta. A forma alongada se apresenta com as duas extremidades afiladas, com grande numero de dobras na membrana ondulante e com movimentos muito vivos. Observam-se ondas contrateis muito rapidas, caminhando da extremidade posterior para a posterior. O nucleo, pouco vizivel no estado vivo, aparece como uma vezicula clara na zona media. No plasma não se observam sulcos, nem vacuolo nutritivo. Aos movimentos rapidos de propulsão para a frente se associam os movimentos de lateralidade, tambem muito rapidos e energicos, que tornam a observação do parasito vivo muito difficil. A forma curta, a fresco, se observa com os mesmos caracteristicos da forma alongada, havendo apenas a mencionar sua maior largura.

Exame do parasito em preparados corados.

O parasito se apresenta no sangue com dous aspetos morfolojicos distintos e que não podem indicar simples estádios de crescimento, mas, ao contrario disso, pela diversidade das dimensões, pelas suas propriedades corantes especiais, quando tratado pelos metodos de coloração derivados do ROMANOWSKY e, sobretudo, pelas estruturas diferentes do nucleo ou em estado de repouzo, ou em estado de atividade, autorizam a considerar os dous aspetos como caracterizando a dualidade de sexos.

A forma larga, cujo plasma se cora em azul mais intenso pelo GIEMSA, difere ainda da forma estreita pelo comprimento menor e pelo flajelo livre, sem duvida mais curto. O plasma, por outro lado, não apresenta o aspeto alveolar, facilmente observavel no plasma das formas longas. O blefaroplasto acha-se colocado muito proximo da extremidade e apresenta dimensões muito pequenas; é constituido por um corpusculo central de cromatina, o cariozoma, em torno do qual, ás vezes, é possivel observar um halo claro, a zona do suco blefaroplastico. A membrana ondulante, bastante larga, apresenta grande numero de dobras, circundando todo o parasito. O flajelo de alguns exemplares

gefunden wird. Man unterscheidet deutlich zwei Formen, eine lange und dünne, sowie eine kurze und breite. Die lange Form zeigt beide Enden zugespitzt und eine sehr faltige Membran; dabei ist sie sehr beweglich. Man sieht Kontraktionswellen, die sehr schnell vom Vorder- nach dem Hinterende verlaufen. Der in Leben wenig deutliche Kern erscheint als ein kleines Bläschen im Mittelteile; das Plasma weist weder Furchen, noch Nährvakuolen auf. Zu den schnellen Propulsionsbewegungen gesellen sich ebenso rasche und energische Seitenbewegungen, welche die Untersuchung des lebenden Parasiten sehr erschweren. Die kurze Form zeigt im Leben dieselben Kennzeichen, wie die lange, unterscheidet sich aber durch die grössere Breite.

Untersuchung des Parasiten in gefärbten Präparaten:

Der Parasit erscheint im Blute unter zwei verschiedenen Formen, welche nicht nur Wachstumsstufen entsprechen können; vielmehr berechtigen die Unterschiede in den Dimensionen und in der Färbbarkeit, wenn sie mit den Modifikationen der ROMANOWSKYSchen Methode behandelt werden, und ganz besonders in der Struktur des ruhenden oder aktiven Kernes dazu, diese Formen als den Ausdruck einer geschlechtlichen Dualität aufzufassen.

Die breite Form, deren Plasma sich nach GIEMSA stärker blau färbt, unterscheidet sich ausserdem von der schmalen durch geringere Länge und eine deutlich kürzere, freie Geissel. Auf der anderen Seite zeigt ihr Plasma nicht den alveolären Bau, der bei den langen Formen auffällt. Der Blepharoplast liegt sehr nahe am Hinterende und ist sehr klein; er besteht aus einem zentralen Chromatinkorn, dem Karyosom, um den man manchmal einen hellen Hof, die Blepharoplastsaftzone erkennt. Die ziemlich breite undulierende Membran zeigt eine grosse Zahl von Falten, welche den Parasiten umgeben. Bei einigen Exemplaren scheint die Geissel nicht direkt vom Blepharoplasten zu entspringen, sondern an einem von ihm

parece não partir diretamente do blefaroplasto, mas dum ponto distante deste, não tendo sido possível verificar com nitidez a existencia dum corpusculo bazal.

Devemos considerar a forma larga como organismo femeo. No outro aspeto morfológico o parasito apresenta o corpo mais estreito, de comprimento maior, excedendo dum terço ou mais a forma anterior. No plasma são observados alguns alveolos com muito maior nitidez que na forma larga. O blefaroplasto acha-se também colocado muito proximo da extremidade posterior, não apresentando nada mais de característico para diferenciá-lo do nucleo motor da outra forma. A membrana ondulante, também bastante larga, apresenta numero de dobras consideravel.

Esta forma deverá ser considerada com a forma macho do tripanozomo.

Quanto á existencia dum outro tipo morfológico, interpretavel como representando as formas indiferentes, não tivemos oportunidade de observá-lo, sendo aliaz hoje considerado por alguns pesquisadores que as formas indiferentes de SCHAUDINN são as formas fecundadas no organismo do transmissor.

Nucleo principal. — O nucleo principal deste parasito apresenta como característica notavel uma condição de cinez precoce, de modo que a grande maioria dos parasitos, observados no sangue, apresenta-se com o nucleo em estádios diversos de divizão. É raro, ser possível encontrar, principalmente nas formas longas do parasito, algum nucleo em estado de repouzo, o que dificulta dar descrição exata do aspeto nuclear normal.

Entretanto, nas formas longas em inicio de divizão (Est. 19, fig. 1), poder-se-á ter idéa da estrutura do nucleo, que na figura referida só apresenta a divizão do centriolo. O nucleo deste parasito representa um tipo bem definido dos denominados nucleos cariozomicos. O cariozoma se apresenta volumoso, como uma massa compacta, situada no centro do nucleo, mostrando, nas suas bordas, cromatina mais condensada. Na zona do suco nuclear existem, nestes estádios iniciais de divizão,

entfernten Punkte; doch war es nicht möglich das Vorkommen eines Basalkörpers deutlich zu erkennen.

Wir müssen also die breite Form als den weiblichen Organismus ansehen.

In der anderen Form zeigt der Parasit einen dünneren Körper, der an Länge die soeben beschriebene Form um ein Drittel oder mehr übertrifft. Im Plasma lassen sich, weit deutlicher, als bei der breiten Form, einige Alveolen erkennen. Der Blepharoplast liegt auch hier sehr nahe am Hinterende und zeigt keinen deutlichen Unterschied gegenüber dem motorischen Kerne der anderen Form. Die undulierende Membran ist ebenfalls sehr breit und zeigt eine beträchtliche Anzahl von Falten.

Diese Form des Trypanosomas muss als die männliche aufgefasst werden.

Das Vorkommen eines weiteren morphologischen Typus, welcher als indifferente Form aufgefasst werden könnte, haben wir nicht beobachtet; nach der gegenwärtigen Auffassung mancher Autoren sind die indifferenteren Formen von SCHAUDINN unbefruchtete weibliche Formen aus dem Organismus des Ueberträgers.

Hauptkern: Der Hauptkern dieses Parasiten zeigt als bemerkenswerte Eigentümlichkeit einen verzeitigen karyokinetischen Zustand, so dass die Mehrzahl der im Blute beobachteten Parasiten den Kern in verschiedenen Teilungsphasen zeigen. Besonders bei den langen Formen kann man nur selten einen Kern in Ruhezustande antreffen, was eine genaue Beschreibung der normalen Struktur erschwert.

Immerhin kann man sich bei den, im Beginn der Teilung begriffenen, langen Formen eine Idee von der normalen Beschaffenheit des Kernes machen, der in Fig. 1 nur eine Teilung des Zentriols zeigt. Er zeigt deutlich den Typus der sogenannten Karyosomkerne. Das grosse Karyosom erscheint als kompakte, im Kernzentrum gelegene Masse, die an ihren Rändern verdichtetes Chromatin aufweist. In der Kernsaftzone finden sich in den ersten Phasen der Teilung Bälkchen von

trabeculas de substancia acromatica, não sendo possível observar aí nenhuma cromatina, que, se existe, estaria em estado de dissolução (CHATTON).

A membrana nuclear se apresenta bastante espessa e de contornos muito nítidos. A existencia dum centriolo revela-se com nitidez e de modo irrecuzavel nos estádios de divisão do nucleo (Est. 19, figs. 1, 12, 14, 24, 26). Em alguns estádios mais adiantados da divisão nuclear a membrana do nucleo desaparece.

Nas formas largas do parasito os nucleos, que pudemos observar, mostram estrutura inteiramente diversa. Representará ella o aspeto normal do nucleo em repouzo ou indicará o primeiro estádio de divisão pela formação de cromozomios do cariozoma? (Est. 19, figs. 2 e 10). Neste caso, ao em vez da volumosa massa central de cromatina, encontra-se no centro do nucleo, dispostas sobre uma massa de substancia acromatica, porções de cromatina sob a forma de bastonetes ou mais ou menos granuloza. A zona de suco nuclear se mostra, nestes cazos, inteiramente livre de substancias cromaticas e de trabeculas acromaticas.

Divisão do nucleo principal. — As figuras de divisão nuclear observadas nos parasitos do sangue circulante são muito interessantes e se realizam segundo moldes bem definidos.

É um processo de divisão previa, não tendo sido possível até agora verificar a divisão binaria do plasma do parasito, pelo que permanecemos em duvida a respeito do modo exato da multiplicação deste tripanozomo. No sangue periferico, em grande numero de pesquisas realizadas, nem conseguimos mesmo observar fórmulas parasitarias com dois nucleos já individualizados. Todas as figuras, que nos foi possível estudar, representam estádios diversos de mitoze nuclear, algumas dellas mostrando separação quazi completa dos dois nucleos, os quais, porem, ainda se mostram em continuidade.

Alguns aspetos observados nos estádios de divisão do nucleo deste tripanozomo não puderam, por emquanto, receber

achromatischer Substanz und man kann daselbst kein Chromatin erkennen; ist letzteres vorhanden, so muss es in gelöstem Zustande sein (CHATTON).

Die Kernmembran erscheint ziemlich dicht und mit sehr deutlichem Umriss. Das Vorkommen ist in den Stadien der Kernteilung deutlich erkennbar und unzweifelhaft (Taf. 19, Fig. 1, 12, 14, 24, 26). In einigen vorgeschrittenen Kernteilungsphasen verschwindet die Nuklearmembran.

In den breiten Formen des Parasiten boten die von uns beobachteten Kerne ein ganz anderes Bild, von dem es zweifelhaft bleibt, ob es den normalen ruhenden Kern oder die erste Kernteilungsphase mit Bildung von Chromosomen aus dem Karyosom zeigt (Taf. 19, Fig. 2 & 10). In diesem Falle zeigt das Kernzentrum, statt einer grossen zentralen Chromatinmasse, stäbchenförmige, mehr oder wenige körnige, auf einer Masse von achromatischer Substanz verteilte Chromatinpartikel. Die Kernsaftzone erscheint in diesen Fällen ganz frei von chromatischen Substanzen und achromatischen Bälkchen.

Teilung des Hauptkernes: Die Kernteilungsfiguren der Trypanosomen im Blute sind sehr interessant und werden in gesetzmässiger Folge beobachtet.

Es handelt sich um einen vorzeitigen Teilungsprozess und die Zweiteilung des Plasmakörpers konnte bisher nicht beobachtet werden, so dass die genauere Art der Vermehrung dieses Trypanosomas noch zweifelhaft bleibt. Bei einer grossen Anzahl von Untersuchungen des peripheren Blutes konnten wir nicht einmal parasitäre Formen mit zwei schon ganz individualisierten Kernen finden. Alle Bilder, die wir studieren konnten, stellen verschiedene Stadien der Nuclearmitose dar, von denen einige bereits eine fast völlige Trennung der beiden Kerne zeigen, welche aber doch noch in Zusammenhange verbleiben. Einige Zustände, welche wir bei der Kernteilung dieses Trypanosomas beobachteten, konnten vorläufig nicht definitiv aufgeklärt werden und es sind dazu neue Untersuchungen nötig. Die wichtigsten Figuren

explicação definitiva, exigindo novas pesquisas. As principais figuras, porém, parecem nos indicar duas modalidades de divisão nuclear: uma, observada nas formas longas e outra, até agora só encontrada nas formas largas.

Divisão do nucleo nas formas longas.

— A divisão do nucleo se realiza com uma promitose do cariozoma, bem comparavel á descrita para algumas amebas do tipo *limax*, havendo posteriormente formação duma placa equatorial e de um fuзо acromatico entre as duas metades do cariozoma dividido.

A primeira fase da mitose consta da divisão do centriolo, cujas metades vêm se colocar na zona do suco nuclear ou aderentes á propria membrana do nucleo (Est. 19, figs. 14, 27). O cariozoma se divide então em duas metades, que se afastam e que vão constituir as placas polares. Convem notar, na promitose do cariozoma, a frequente desigualdade das duas porções em que a cromatina se divide, havendo, portanto, ao contrario do que em regra se observa, ao lado de promitose homopolar, como é a regra, cazos de promitose hetero-polar. Assim, pois, o cariozoma se divide, ora em duas metades iguais, que vão constituir em torno dos centriolos previamente divididos duas placas polares das mesmas dimensões (Est. 19, figs. 28, 32, 33, 34, 39), ora em duas partes desiguais, isto é, a divisão se realiza regundo o tipo hetero-polar (Est. 19, figs. 35, 36, 37, 38, 40).

Afastadas as duas metades do cariozoma que permanecem ligadas entre si pelo filamento central, a substancia acromatica da zona do suco nuclear fórma entre as duas placas polares um fuзо acromatico. No centro deste aparece então uma pequena placa equatorial. Será esta formada á custa da cromatina vinda das placas polares, ou, segundo a interpretação de CHATTON, para as amebas do tipo *limax*, representará esta placa equatorial a cromatina que permanecia em estado dissolvido na zona do suco nuclear? Seja como fôr, a placa equatorial cromatica vai dividir-se em duas metades que, as mais das vezes,

scheinen uns aber auf zwei Formen der Kernteilung hinzuweisen, von denen eine bei den langen, die andere bisher nur bei den breiten Formen beobachtet wurde.

Kernteilung bei den langen Formen: Die Kernteilung wird durch eine Promitose des Karyosoms eingeleitet, welche sich der, bei einigen Amoeben vom *Limax*typus beschriebenen, vergleichen lässt, wobei nachträglich zwischen den beiden Hälften des geteilten Karyosoms die Bildung einer Aequatorialplatte und einer achromatischen Spindel stattfindet.

Die erste Teilungsphase erkennt man an der Teilung des Zentriols, dessen Hälften sich in der Kernsaftzone und manchmal an die Kernmembran selbst lagern (Fig. 14, 27). Das Karyosom teilt sich dann in zwei Hälften, die aus einander rücken, um die Polarplatten zu bilden. Bei der Promitose des Karyosoms muss die häufige Ungleichheit der beiden Teilstücke hervorgehoben werden, wobei aber, der gewöhnlichen Regel zuwider, neben der normalen homopolaren Promitose, auch Fälle einer heteropolaren beobachtet werden. So teilt sich also das Karyosom bald in zwei gleiche Hälften, welche um die bereits geteilten Zentriole zwei gleich grosse Polarplatten bilden, (Taf. 19; fig. 28, 32, 33, 34 und 39), bald in zwei ungleiche Teile, d. h. die Teilung folgt dem heteropolaren Typus (Taf. 19, Fig. 35, 36, 37, 38, 40).

Nachdem die beiden Teile des Karyosoms auseinandergerückt sind, wobei sie aber durch den Zentralfaden verbunden bleiben, bildet die achromatische Substanz der Kernsaftzone zwischen den beiden Polarplatten eine achromatische Spindel, in deren Mitte darauf eine kleine Aequatorialplatte auftritt. Es bleibt dabei zweifelhaft, ob sie von Chromatin gebildet wird, welches von den Polarplatten abstammt, oder, nach der Auffassung von CHATTON für die Amoeben vom *Limax*typus, aus solchem, welches in gelöstem Zustande in der Kernsaftzone verblieben war; wie dem auch sei, so teilt sich die Aequatorialplatte hierauf in zwei Hälften, die meistens zwei gekrümmte Chromatin-

se apresentam como dois bastonetes de cromatina curvos (cromozomios?), não sendo raras as figuras, nas quais as placas filhas se apresentam com o aspeto de dois corpusculos cromaticos esfericos.

A divizão se dá transversalmente, em relação ao fuзо de substancia acromatica, ficando as duas placas filhas lateralmente colocadas, uma em face da outra, e indo depois para os pólos, onde a cromatina dellas se vai fundir com a cromatina das placas polares (Est. 19, figs. 32, 33, 34, 35, 39, 29 e 30).

O fuзо de substancia acromatica parece que se divide tambem transversalmente, como acontece com a placa equatorial, reunindo-se elle primeiro em uma massa central, perdendo o aspeto de fuзо (Est. 19, figs. 37, 38).

Divizão do nucleo nas formas largas.
— Toda a cromatina nuclear se apresenta disposta numa zona acromatica sob forma de bastonetes ou corpusculos arredondados no centro do nucleo. Este aspeto parece indicar o primeiro estádio de divizão mitotica do nucleo, que aqui se realiza normalmente, segundo uma mitoze tipica homopolar (Est. 19, figs. 47, 48). A participação dum centriolo nesta modalidade mitotica aparece nitidamente na figura 44.

Uma vez dividido o centriolo e formado o fuзо central, a cromatina se dispõe em placa equatorial de volume maior que no caso anterior e com os cromozomios individualizados (Est. 19, fig. 44). Neste caso, os centriolos sofrem muitas vezes novo processo de divizão, antes de completa a mitoze do nucleo, o que está de acordo com a grande atividade do componente locomotor dos nucleos deste tripanozomo (Est. 19, fig. 44).

Os estádios seguintes da divizão nuclear desta forma não foram observados.

Na figura 11, que representa um tripanozomo da forma larga, o aspeto do nucleo parece indicar divizões sucessivas, por estrangulamento, da cromatina do cariozoma primitivo para a formação dos cromozomios. Essas duas modalidades — promitose do cariozoma com formação de placas polares e de pequena placa equa-

stábchen (Chromosomen?) bilden; doch sind auch Bilder nicht selten, bei welchen die beiden Tochterplatten als zwei runde Chromatinkörperchen erscheinen.

Die Teilung erfolgt senkrecht auf die achromatische Spindelsubstanz und die beiden Tochterplatten lagern sich seitlich und gegenüber, um später nach den Polen zu rücken, wo ihr Chromatin mit denjenigen der Polarplatten verschmilzt (Fig. 32, 33, 34, 35, 39, 29 & 30).

Die achromatische Spindelsubstanz scheint sich ebenfalls quer zu teilen, wie dies bei der Aequatorialplatte geschieht, wobei sie sich zuerst unter Verlust der Spindelform in eine zentrale Masse umformt (Taf. 19, Fig. 37, 38).

Kernteilung bei den breiten Formen:
Das gesammte Chromatin erscheint in Stábchen- oder Körnerform innerhalb einer achromatischen Zone im Zentrum des Kernes gelagert. Dieses Bild scheint die erste Phase der Kernmitose anzudeuten, welche sich hier normal als typische homopolare Mitose vollzieht (Fig. 47, 48). Die Mitwirkung eines Zentriols bei dieser Mitosenform erscheint deutlich in Fig. 44.

Nach Teilung des Zentriols und Bildung der Zentralspindel ordnet sich das Chromatin zu einer weit voluminöseren Aequatorialplatte, als im obigen Falle mit getrennten Chromosomen (Fig. 44). In diesem Falle gehen die Zentriolen häufig einen neuen Teilungsprozess ein, was mit der grossen Aktivität der lokomotorischen Komponente der Kerne dieses Trypanosomas in Einklang steht (Fig. 44). Die späteren Phasen der Kernteilung dieser Form wurden nicht beobachtet.

In Figur 11, welche ein Trypanosoma der breiten Form darstellt, scheint das Aussehen des Kernes wiederholte Teilungen des Kariosomchromatines durch Abschnürung behufs Bildung der Chromosomen anzudeuten. Diese beiden Vorgänge — Promitose des Karyosoms mit Bildung zweier polaren und einer kleinen äquatorialen Platte bei der langen Form und eine mehr ausgebildete Mitose mit vorgängiger Zentriolteilung und Bildung

torial para as formas longas, e mitoze mais desenvolvida, com divisão previa do centriolo e formação de fuзо com placa equatorial muito desenvolvida para as formas longas — constituem os dois processos mais comuns da divisão nuclear do parazito.

Algumas modalidades, porem, são encontradas, que se afastam dos tipos referidos. Assim no nucleo das formas longas, ao em vez da mitoze, segundo o processo descrito, não é raro observarem-se cazos, indicando tranzição da promitose do cariozoma para um tipo de mitoze mais desenvolvido. Assim é que em algumas figuras observa-se, antes da divisão do cariozoma, a formação do fuзо central com os centriolos colocados em seus polos, sendo mais frequente tambem aqui nos centriolos a divisão precoce (Est. 19, figs. 12, 15, 24, 25, 42).

Tais aspetos diferem do tipo comum de divisão do nucleo das formas longas pelo aparecimento dum fuзо acromatico antes da promitose do cariozoma.

A figura 18 representa a divisão precoce duma das metades do nucleo primitivo, antes que a mitoze completa deste ultimo se tenha realizado. Outros aspetos nucleares observados, como os das figs. 13, 19, 20, 21, 31, 16, exigem novas pesquisas para interpretação certa, podendo indicar aspetos artificiais ou correr por conta de condições dejenerativas do nucleo.

Terminando aqui reiteramos ao nosso distinto amigo Dr. CARLOS CHAGAS os nossos mais sinceros agradecimentos pelo seu inestimavel auxilio na execução deste trabalho, na maior parte devido ás suas sabias lições.

Manguinhos, Novembro de 1911.

einer Spindel mit stark entwickelter Aequatorialplatte bei der breiten Form — bilden die gewöhnlichsten Kernsteilungsprozesse dieses Parasiten.

Es werden aber auch Vorgänge beobachtet, welche sich von den angeführten Typen entfernen. So sieht man bei dem Kerne der langen Form — an Stelle des beschriebenen Mitosenprozesses — nicht selten Bilder, welche auf einen Uebergang der Promitose des Karyosoms zu einem höher entwickelten Mitoseprozesse hindeuten. Auch sieht man auf einigen Figuren, vor der Teilung des Karyosoms, die Bildung einer Zentralspindel mit, an den Polen liegenden, Zentriolen, wobei auch hier an denselben häufig eine vorzeitige Teilung beobachtet wird (Taf. 19, Fig. 12, 15, 24, 25, 42).

Solche Bilder unterscheiden sich vom gewöhnlichen Kernteilungstypus der langen Form durch das Auftreten einer achromatischen Spindel vor der Promitose des Karyosoms.

Fig. 18 stellt die vorzeitige Teilung einer der Hälften des primären Kernes dar, bevor sich die Mitose desselben vollständig vollzogen hat. Andere beobachtete Kernbilder, wie diejenigen in Fig. 13, 19, 20, 21, 31, 16, verlangen weitere Untersuchungen zu ihrer Aufklärung; es kann sich um Deformationen oder degenerative Zustände des Kernes handeln.

Zum Schlusse wiederholen wir Herrn Dr. CARLOS CHAGAS unseren aufrichtigsten Dank für seine unschätzbare Hilfe bei Vollendung dieser Arbeit, die wir grösstenteils seiner Belehrung verdanken.

Manguinhos, November 1911.



