

Citolojia e ciclo evolutivo da CHAGASELLA ALYDI

Novo coccidio parasito dum hemiptero do genero "Alydus".

pelo

Dr. ASTROGILDO MACHADO

(Com as estampas 4 e 5)

Zytologie und Entwicklungszyklus der CHAGASELLA ALYDI

Einer neuen Kokzidienart aus einer Wanze vom "Genus Alydus".

von

Dr. ASTROGILDO MACHADO

(Mit Tafeln 4 u. 5)

Introdução.

Na região norte do Estado de Minas tivemos ocasião de encontrar, em pequeno hemiptero pertencente ao genero *Alydus* (familia *Coreidae*), um coccidio que, a principio, nos pareceu ser da mesma especie descrita por CHAGAS sob a denominação de *Adelea hartmanni*, parasito do intestino do *Dysdercus ruficollis*.

Só encontrámos 4 intensamente parasitados; os outros que examinámos, em grande numero, não apresentavam nenhuma forma do coccidio.

Destacavamos a extremidade do abdome do resto do corpo, por meio de agulha fina, pondo assim a descoberto quasi todo o conteúdo da cavidade abdominal do inseto (intestino, organs genitais, tubos de MALPIGHI, etc.). Isolando o intestino dos outros organs, dissociavamos aquele e estes separadamente, cobrindo com laminula para o exame a fresco. O material era depois fixado no sublimado-alcool de SCHAUDINN e corado pela hematoxilina ferrea de HEIDENHAIN.

Einleitung.

Im nördlichen Teile von Minas fand ich gelegentlich in den Wanzen vom Genus *Alydus*, (Fam. *Coreidae*) ein Kokzidium, welches mir anfänglich dieselbe Art zu sein schien, welche CHAGAS unter dem Namen *Adelea hartmanni* beschrieben hat und welche im Darne des *Dysdercus ruficollis* lebt. Ich fand nur vier stark parasitenhaltige Exemplare; zahlreiche andere zeigten bei der Untersuchung keine Kokzidienform.

Mittelst einer Nadel lösste ich das Hinterende des Abdomens vom Reste des Körpers ab, wodurch fast der ganze Inhaber des Bauches, Darm und Malpighische Gefässe, innere Geschlechtsorgane etc. freigelegt wurden. Der Darm wurde dann von den anderen Organen getrennt und beide Teile gesondert und im Deckglaspraeparat frisch untersucht. Nachher wurde das Material nach SCHAUDINN in Sublimatalkohol fixiert und nach HEIDENHAIN in Eisenhaematoxylin gefärbt.

O exame das preparações, por este modo obtidas, nos convenceu que se tratava de protozoário de especie diversa da *Adelea hartmanni* CHAGAS, apesar de haver estádios evolutivos, no ciclo do parasito, que aproximavam as duas especies.

Ambas oferecem tres esporoblastas no esporocisto. Por isto, como CHAGAS já observára no coccidio do *Dysdercus*, não podia permanecer no genero *Adelea* (cujo esporocisto apresenta 4 esporoblastas), e LÉGER, no seu trabalho sobre a systematica dos coccidios, criou para elle o genero *Chagasia*.

Em nota preliminar que publicámos no «Brazil Medico» (1911), sobre o coccidio por nós encontrado, fizemos ver que a denominação de *Chagasia*, proposta por LÉGER não podia permanecer, visto já ter sido dada a uma culicida — *Chagasia Fajardoi*, e criámos então a de *Chagasella*, em homenagem a nosso mestre Dr. CARLOS CHAGAS, incluindo neste genero os dois coccidios então conhecidos: *Chagasella hartmanni* (*Adelea hartmanni* de CHAGAS) e *Chagasella alydi*, cujo estudo passamos a fazer.

Esta especie é encontrada no intestino do inseto hospedador, mas parasita tambem seus organs genitais. O coccidio provavelmente atravessa as paredes do tubo intestinal, cae na cavidade celomica e passa daí para os ovarios ou testiculos. É pouco provavel a infeção ter inicio nesses organs, si assim fosse, a transmissão do protozoario, de inseto a inseto, talvez se fizesse por intermedio da copulação deles.

Os generos *Adelea* e *Chagasella* são bastante aproximados entre si; distinguem-se principalmente pela existencia de 4 esporoblastas no esporocisto daquelle e de 3 no deste. Ambos, de acordo com a classificação de LÉGER, (que é uma ampliação da de LUEHE) ficam incluídos na familia *Adeleidea*.

Ciclo asexuado.

Macroesquizogonia.

E' bem evidente, na *Chagasella alydi*, a duplicidade de aspetos nos processos esquizogonicos, que foi, pela primeira vez, sor-

Die Untersuchung der so erhaltenen Präparate bewies mir, dass es sich um einen von *Adelea hartmanni* CHAGAS verschiedenen Organismus handelte, obgleich bei demselben Entwicklungsformen, vorkamen, welche auf nahe Beziehungen beider Parasitenarten hingen. Beide zeigen 3 Sporoblasten im Sporocysten. Deswegen kann, wie schon CHAGAS bemerkte, das Kokzidium des *Dysdercus* nicht im Genus *Adelea* verbleiben, dessen Sporocyst 4 Sporoblasten zeigt und LÉGER errichtete dafür in seiner Arbeit über die Systematik der Kokzidien das Genus *Chagasia*.

In einer vorläufigen Mitteilung über unser Kokzidium, welche im *Brazil-Medico* (1911) erschien, zeigte ich, dass der von LÉGER vorgeschlagene Name *Chagasia* nicht Geltung haben könne, da er schon an eine Culicidenart vergeben war und ersetzte ihn durch denjenigen von *Chagasella* zu Ehren unseres Lehrers, Dr. CARLOS CHAGAS; in dieses Genus kommt ausser der zuerst als *Adelea hartmanni* beschriebenen Art auch die hier studierte *Chagasella alydi*.

Die letzt erwähnte Art wird im Darm des Wirtes gefunden, befällt aber auch die Geschlechtsdrüsen. Wahrscheinlich durchsetzt der Parasit die Darmwände, gerät ins Zoelom und tritt von da in die Ovarien und Hoden über. Es ist wenig wahrscheinlich, dass die Infektion in diesen Organen beginnt; wäre dies so, so könnte die Uebertragung des Parasiten bei der Copulation stattfinden.

Die Genera *Adelea* und *Chagasella* stehen einander ziemlich nahe; der Hauptunterschied liegt in dem Vorkommen von 4 Sporoblasten bei ersterem und 3 beim letzteren. Beide kommen nach der Klassifikation von LÉGER (welche eine Erweiterung derjenigen von LUEHE ist) in die Familie *Adeleidea*.

Ungeschlechtlicher Zyklus.

Makroschizogonie.

Bei der *Chagasella alydi* ist das Auftreten zweier verschiedener Bilder bei den Schizogonievorgängen sehr deutlich. Eine

prendida por SIEDLECKI na *Adelea ovata*, e posteriormente confirmada por outros pesquisadores.

Os macromerozoitos se apresentam como células alongadas, recurvadas, providas de núcleo com cariozoma muitas vezes formado pela reunião de pequenos granulos de cromatina, que estão circundados pela orla clara da zona de suco nuclear.

Esta é limitada externamente por tenue membrana (Est. 4, figs. 1, 2). O plasma apresenta grossos alveolos e, raras vezes, alguns vacuolos com finos granulos cromáticos. Alguns individuos oferecem o núcleo com cariozoma compacto, fortemente impregnado de materia corante, o que impede de se tornar vizível o centriolo (Est. 4, fig. 4.). Podemos considerar o parasito representado nesta figura, apesar dele já ter penetrado numa célula, como macromerozoito, visto não ter ainda sofrido nenhuma modificação de forma e volume.

O aspeto destes núcleos, com cariozoma indiviso, zona clara de suco nuclear e imediatamente para fóra dela a membrana, lembra, muito de perto, o trofonúcleo dum *binucleata*.

Penetrando na célula, o macromerozoito aumenta de volume, suas extremidades se atenuam, transformando-se em macroesquizonte que apresenta forma oval (fig. 13.) ou arredondada (figs. 10, 11, Est. 4). O aspeto do seu plasma é aproximadamente o mesmo do observado no macromerozoito, sendo apenas maiores os seus alveolos. O núcleo se modificou sensivelmente, apresentando agora rica zona acromática provida de tenues trabeculas de linina. Dentro dele o cariozoma, por ocasião da multiplicação da célula, fragmenta-se multiplas vezes, dando outros menores que, pela ruptura da membrana nuclear, são expulsos para o plasma; aí, ás vezes, sofrem ainda posteriores divisões, e constituem novos núcleos (figs. 13, 15, Est. 4). Em torno destes se junta certa porção de plasma que se segmenta depois, formando então um agregado de macromerozoitos (Est. 4 e 5, figs. 22, 23, 24). Pela superposição destes elementos, na forma segmentada, tor-

solche wurde zuerst von SIEDLECKI bei *Adelea ovata* entdeckt und nachher von anderen Forschern bestätigt.

Die Makromerozoiten erscheinen als längliche gekrümmte Zellen mit Kern und Karyosom; letzteres besteht öfters aus einer Gruppe von kleinen Chromatinkörnchen mit einem hellen Saume der Kernsaftzone. Das Plasma zeigt grosse Waben und in seltenen Fällen einige Vakuolen mit feinen Chromatinkörnchen. Bei einigen Individuen hat der Kern ein kompaktes Karyosom, das von den Farbstoffen stark imprägniert wird, was das Erkennen des Zentriols verhindert (Taf. 4, Fig. 4). Den in dieser Figur ausgebildeten Parasiten können wir, obschon er bereits in eine Zelle eingedrungen ist, als Makromerozoiten ansprechen, da sein Volum noch unverändert erscheint.

Das Bild dieser Kerne mit ungeteiltem Karyosom, und heller, unmittelbar von der Membran umgebener Kernsaftzone erinnert sehr an den Trophonukleus der *Binucleata*.

Nach dem Eindringen in die Zelle vergrössert sich der Makromerozoit, seine Enden runden sich ab und er wird so zum Makroschizonten von ovaler (Fig. 13) oder runder (Fig. 10, 11; Taf. 4) Form. Sein Plasma gleicht im Aussehen dem des Makromerozoiten, nur sind einige der Alveolen grösser. Der Kern hat sich dagegen deutlich verändert, indem er jetzt eine reichliche áchromatische Zone bietet, welche dünne Linienbälkchen enthält. Innerhalb derselben sieht man bei der Zellteilung das Karyosom in viele kleinere zerfallen, welche durch Ruptur der Kernmembran ins Plasma austreten; hier teilen sie sich manchmal noch weiter und bilden neue Kerne (Taf. 4, Fig. 13, 15). Um dieselben häuft sich eine Plasmamasse, welche sich weiter teilt und dann ein Agregat von Makromerozoiten bildet (Taf. 4 und 5, Fig. 22 bis 24). In Folge ihrer Ueberlagerung bei der segmentierten Form wird es schwierig, ihre Zahl genau festzustellen. Fig. 22 zeigt ein vorgerücktes Teilungsstadium, aber die Tochterzellen, welche sich dort abgerundet zeigen, werden wahrscheinlich weitere Teilun-

na-se difícil saber exatamente o número deles. A fig. 22 mostra um período adiantado de multiplicação, mas as células filhas, que aí se acham arredondadas, sofrerão provavelmente outras divisões até que cheguem aos aspectos das figs. 23 e 24.

A disposição dos macromerozoitos, entre si, é, quasi sempre, diversa da dos micromerozoitos; aqueles estão colocados em planos perpendiculares e oblíquos, estes se acham dispostos em planos mais ou menos paralelos, as suas extremidades internas encaixam-se reciprocamente, como se observa pela comparação das figs. 18, 21 e 23, 24.

Outra diferença consiste nos alveolos do plasma, que são mais grossos nos macro do que nos micromerozoitos, o que se nota ainda pela comparação das mesmas figuras.

As formas de segmentação esquizogônica na *Chagasella alydi* são sempre envolvidas por membrana, como verdadeira capsula formada pelo parasito. Adiante estudaremos sua natureza, apenas notando agora, que ela representa os restos da célula em que evoluiu o coccidio.

Nos diversos estádios do núcleo, na evolução do macroesquizonte, nunca pudemos observar aspecto algum que lembrasse, ao menos longinquamente, um processo de divisão binária homopolar. O mesmo acontece na microesquizogonia e, por isso, acreditamos ser este coccidio desprovido de qualquer outro processo de divisão nuclear, além do que se realiza por meio da formação de *polycarios*.

Microesquizogonia.

O micromerozoito oferece aspecto um pouco diverso do macromerozoito. É de menor dimensão e seu plasma, sendo mais transparente, é mais finamente alveolado.

O núcleo possui pequeno cariozoma formado, quasi sempre, por pequenos grânulos de cromatina, o que torna impossível saber qual deles seja o centriolo.

Logo após a segmentação do microesquizonte, os micromerozoitos, ainda reunidos entre si, já apresentam, às vezes, o cariozoma com esse aspecto, como se vê em algumas células da figura 18.

gen eíngem, bis sie die Formen von Fig. 23 und 24 erreichen.

Die gegenseitige Lagerung der Makromerozoiten ist fast immer von derjenigen der Mikromerozoiten verschieden; jene liegen in perpendikulären und schrägen, diese in nahezu parallelen Ebenen, wobei die Enden der letzteren sich in einanderlegen, wie man auf den Fig. 18, 21, 23 und 24 sieht.

Ein anderer Unterschied besteht in den Plasmaalveolen, welche bei den Makromerozoiten grösser sind, als bei den Mikromerozoiten, was ebenfalls aus den angegebenen Figuren ersichtlich ist.

Die Teilstücke sind bei der Schizogonie von *Chagasella alydi* immer von einer Membran umgeben, welche wie eine, dem Parasiten angehörende Kapsel, aussieht. Ihre Natur soll später erörtert werden; hier genügt die Angabe, dass es sich um die Reste der Zelle handelt, in welcher das Kokzidium sich entwickelte.

Während der Entwicklung des Makroschizonten habe ich bei den verschiedenen Kernstadien niemals ein Bild beobachtet, welches auch nur entfernt an eine homopolare Zweiteilung erinnerte. Dasselbe trifft für die Mikroschizogonie zu und mir scheint deshalb, dass bei diesem Kokzidium keine andere Kernteilung vorkommt, als die durch Polykaryonbildung.

Mikroschizogonie.

Der Mikromerozoit unterscheidet sich einigermaßen vom Makromerozoiten; er ist kleiner und sein Plasma ist durchsichtiger mit kleineren Alveolen.

Der Kern hat ein kleines Karyosom, das fast stets aus kleinen Chromatinkörnern besteht, weshalb es unmöglich ist zu erkennen, welches dem Zentriol entspricht.

Schon gleich nach der Segmentierung des Mikroschizonten zeigen die noch verbundenen Mikromerozoiten manchmal ein so gestaltetes Karyosom, wie man in einigen Zellen der Fig. 18 sieht.

Envolve o cariozoma a zona de suco nuclear que se acha também limitada pela membrana nuclear.

Penetrando na célula (fig. 5, Est. 4) o microesquizonte cresce e adquire frequentemente a forma ovoide, algumas vezes arredondada (Est. 4, figs. 6, 7, 8 e 9). Devemos notar, desde já, que as três células representadas na fig. 6 e as da figura 7, são microesquizontes, como bem nos mostra o aspeto finamente alveolar de seu plasma. Posteriormente referir-nos-emos a tais associações. No estado adulto o microesquizonte apresenta o núcleo com zona acromática bastante apreciável (fig. 9, Est. 4), chegando, raras vezes, a se realizar uma verdadeira hipertrofia nesta parte dele, como nos mostra a fig. 12.

O cariozoma, sempre envolvido por orla clara, às vezes aparece compacto, outras vezes oferece a cromatina disposta frouxamente (fig. 9), sendo, neste estado, visíveis diversos centríolos no interior dele.

Este fato representa, certamente, o início da formação dos cariozomas filhos anterior a esquizogonia da célula. Estes resultam da segmentação do primitivo cariozoma e ficam, a princípio, como pequenos grânulos de cromatina disseminados dentro da membrana nuclear (fig. 14, Est. 4); posteriormente, pela ruptura desta ou pelo seu atravessamento (como mostra a fig. 15), os novos cariozomas espalham-se no plasma (figs. 7, 15, 16, Est. 4), onde constituem os núcleos de novas células que são os micromerozoítos (figs. 17, 18, 19, 21, Est. 4). Estes apresentam-se, como na macroesquizogonia, quasi sempre envolvidos por uma membrana. Raras vezes, ela não existe (fig. 19), o que indica, certamente, ter se realizado a esquizogonia em parasito que se achava fóra da célula hospedeira.

Não encontramos explicação razoável para o aspeto observado na fig. 20, a não ser que ele represente a esquizogonia precoce dum microesquizonte ainda jovem.

Em toda a evolução dos microesquizontes, como já fizemos notar nos macroesquizontes, não vimos nenhum estágio do núcleo que se assemelhasse a processo de divisão bina-

Das Karyosom wird von der Kernsaftzone umgeben, welche wieder von der Kernmembran begrenzt wird.

Nach sein Eindringen in die Zelle (Taf. 4, Fig. 5) wächst der Mikroschizont und nimmt öfters eine Ei-, seltener eine Kugelform an (Taf. 4, Fig. 6, 7 und 9). Es muss schon jetzt bemerkt werden, dass die drei Zellen in Fig. 6 und diejenigen der Fig. 7 Mikroschizonten sind, wie das feinwabige Plasma deutlich zeigt. Später werden wir solche Assoziationen erörtern. Im ausgewachsenen Zustande zeigt der Mikroschizont einen Kern mit ziemlich deutlicher achromatischer Zone (Taf. 4, Fig. 9), selten vollzieht sich eine förmliche Hypertrophie dieses Bestandteiles, wie in Fig. 10. Das immer von einem hellen Saume umgebene Karyosom, erscheint manchmal kompakt, manchmal mit lose angeordnetem Chromatin (Fig. 9); in letzterem Falle sieht man verschiedene Zentriole in demselben.

Dieser Befund entspricht zweifellos dem Beginne der Bildung der Tochterkaryosome vor der Schizogonie der Zelle. Sie entstehen durch Teilung des ursprünglichen Karyosoms und bleiben zunächst als kleine Chromatinkörner innerhalb der Kernmembran verstreut; später nach Zerreißen oder Durchsetzung (Fig. 15) desselben, verteilen sich die neuen Karyosome im Plasma (Taf. 4., Fig. 7, 15 und 16) wo sie die Kerne neuer Zellen bilden, welche Mikromerozoiten sind (Taf. 4, Fig. 17, 19 und 21). Diese zeigen sich, wie die Makromerozoiten, fast immer von einer Membran umgeben. Selten fehlt dieselbe (Fig. 19), was zweifellos beweist, dass die Schizogonie sich bei einem Parasiten vollzog, der sich ausserhalb einer Wirtszelle befand.

Für das Bild, welches Fig. 20 zeigt, finden wir keine befriedigende Erklärung, es sei denn, dass dasselbe eine verfrühte Schizogonie bei einem noch jungen Mikroschizonten darstelle.

Wie aber schon für die Makroschizonten bemerkt, fand ich auch in der ganzen Entwicklung der Mikroschizonten kein Kernstadium, welches an einen binären Teilungs-

ria. Estamos certo de que o unico processo de multiplicação, aqui, é ainda representado pela formação de *policarios*.

Ciclo sexuado.

Os processos sexuais, na *Chagasella alydi*, aproximam-se dos conhecidos nos cocídios de genero *Adelea*: associação previa de micro a macrogametocito, com formação ulterior de microgametas no elemento macho e redução nuclear no macrogametocito.

Tivemos ocasião de observar certo aspecto do parasito, que expressava, seguramente, um estágio de redução nuclear do macrogametocito. Infelizmente não pudemos obter o desenho no momento e perdemos o ponto em que se achava na preparação, nunca mais nos sendo dado ver forma identica a essa. O macrogameta a que nos referimos, mostrava, adherente á periferia, pequena porção de plasma arredondada, tendo em seu interior um granulo de cromatina que se achava ligado ao cariozoma por tenue fibrila cromatica.

O nucleo no macrogameta apresenta-se desprovido da abundante zona de linina que possuem os macroesquizontes (comparem-se os macrogametas das figs. 26 e 27 com os macroesquizontes das figs. 10 e 11). Nossa observação sobre esta minucia não nos autorisa todavia a considerar como fenomeno constante. A fig. 25 mostra a celula femea ainda com o nucleo rico em substancia acromatica, o que indica não se ter realizado ainda a redução nuclear, representando este aspecto uma associação precoce de gametocitos jovens devida ao parasitismo deles na mesma celula.

O microgametocito adere á superficie do macrogameta, ás vezes recurvando-se sobre este. Seu nucleo se divide, dando origem á formação os microgametas (figs. 26, 27, est. 5). O processo de formação e o numero deles não pudemos saber exatamente; as figuras 26 e 27 mostram apenas dois microgametas no elemento macho.

Não sabemos si o granulo de cromatina situado proximo ao nucleo do macrogameta, na fig. 26, represente um microgameta, tendo

vorgang erinnerte. Ich bin sicher, dass auch hier die Polykaryumbildung den einzigen Vermehrungsvorgang darstellt.

Sexueller Zyklus.

Die geschlechtlichen Vorgänge nähern sich bei der *Chagasella alydi* den schon von den Arten des Genus *Adelea* bekannten: vorhergehende Vereinigung von Mikro- und Makrogametozyten und folgende Bildung von Mikrogameten im männlichen Elemente und Kernreduktion im Makrogametozyten.

Ich hatte Gelegenheit ein Bild des Parasiten zu beobachten, welches zweifellos ein Stadium der Kernreduktion beim Makrogametozyten darstellte. Leider konnte ich nicht sofort eine Zeichnung erhalten und verlor die betreffende Stelle des Präparates, ohne später eine entsprechende Form wieder finden zu können. Der Makrogamet, auf den ich mich bezog, zeigte eine kleine, rundliche, der Peripherie adhaerierende Masse, und in seinem Innern ein Chromatinkorn, welches durch eine zarte Chromatinfaser mit dem Karyosom verbunden ist.

Dem Kerne der Makrogameten fehlt die beträchtliche Lininzone, welche die Makroschizonten aufweisen. (Man vergleiche die Makrogameten der Fig. 26 und 27 mit den Makroschizonten der Fig. 10 und 11). Doch gestattet mir meine Beobachtung über dieses Détail nicht, dasselbe als konstante Erscheinung aufzufassen. Fig. 25 zeigt die weibliche Zelle noch mit einem, an achromatischer Substanz reichen Kerne, ein Zeichen, dass die Kernreduktion noch nicht stattgefunden hat; dieses Bild zeigt eine frühzeitige Vereinigung junger Gametozyten als Folge des Parasitismus in derselben Zelle.

Der Mikrogametozyt haftet an der Oberfläche des Makrogameten, indem er sich öfters an deren Krümmung anschmiegt. Sein Kern teilt sich und leitet die Bildung der Mikrogameten ein (Taf. 5, Fig. 26 und 27). Ihre Zahl und Bildungsweise konnte ich nicht genau erkennen; die Figuren 26 und 27 zeigen nur zwei Mikrogameten im männlichen Elemente.

penetrado na célula; achamos tal hipótese pouco provável visto não observarmos, aí, o *fuso de copulação*. Este fato também nunca nos foi possível verificar.

Depois da fecundação forma-se o oocineto (fig. 28, Est. 5), cujo núcleo oferece processo de divisão, uma verdadeira *triplice mitose*, até o presente ainda não observado nos protozoários. A cromatina nuclear se fragmenta em diversas porções; estas se afastam para a periferia da célula em três direções opostas, como os raios duma estrela, ficando ligadas entre si, durante algum tempo, por delgadas fibrilas (figs. 28, 29, Est. 5). Não sabemos se estas fibrilas são provenientes do estiramento de múltiplos centríolos contidos nas diversas porções da cromatina, ou se elas têm a mesma origem daquelas que formam o fuso cromático nas mitoses comuns; ou por outra, se elas são homologas á centrodemesmoze ou provêm da zona cromática do núcleo.

Os aspectos desta *triplice mitose* lembram, até certo ponto, aquele referido por HARTMANN, que se efetua em indivíduos jovens nas colônias de *Collozoum*.

Em seguida, depois de formados os núcleos filhos, o plasma do oocineto se fende em três pontos diversos e equidistantes da periferia para o centro, constituindo então três células isoladas, que são os esporoblastas. Estes apresentam o plasma muito transparente, podendo, apenas por este critério, ser facilmente distinguidos dos outros estádios do parasito.

Cada esporoblasta oferece sempre, mais de um núcleo; não apresentam, porém, por serem núcleos em organização e em fase de atividade cinética, aspecto típico uniforme. São formados por volumosos grânulos de cromatina, de contornos variados, comumente envolvidos por zona clara, espalhados irregularmente no plasma (figs. 30, 31, Est. 5).

A princípio os esporoblastas têm forma arredondada ou ovoide e se acham envolvidos e reunidos por uma membrana que se formára no oocineto; depois se alongam, seus

Ich weiss nicht, ob in Fig. 26 das nahe ans Kerne des Makrogameten gelegene Chromatinkorn einen eingedrungenen Mikrogameten darstellt; ich halte diese Annahme für wenig wahrscheinlich, da man daselbst keine Kopulationsspindel beobachtet. Auch sonst konnte ich diese Erscheinung nie beobachten.

Nach der Befruchtung bildet sich der Okinet (Taf. 5, Fig. 28), dessen Kern den Teilungsprozess einer dreifachen *Mitose* zeigt, wie sie bisher bei den Protozoen noch nicht beobachtet wurde. Das Kernchromatin zerfällt in verschiedene Teile, welche in drei Richtungen nach der Peripherie der Zelle wandern, wie die Strahlen eines Sternes, indem sie noch einige Zeit durch einige dünne Fibrillen verbunden bleiben (Taf. 5, Fig. 28 und 29). Ich kann nicht entscheiden, ob dieselben durch Ausziehen mehrerer in verschiedenen Chromatinportionen enthaltenen Zentríolen entstehen oder ob sie desselben Ursprungs sind, wie diejenigen, welche bei den gewöhnlichen *Mitosen* die Chromatinspindel bilden oder anders gesagt, ob sie den Zentrodemesosen entsprechen oder aus der Chromatinzone des Kernes entstehen.

Die Bilder dieser dreifachen *Mitose* erinnern einigermaßen an die von HARTMANN erwähnte, welche sich bei den jungen Individuen der *Collozoum*kolonien vollziehet.

Nach der Bildung der Tochterkerne teilt sich dann das Plasma des Ookineten von der Peripherie nach dem Zentrum in 3 gleiche Teile, welche darauf drei isolierte Zellen, die Sporoblasten, bilden. Dieselben zeigen ein sehr helles Plasma und können bereits durch dieses Kennzeichen leicht von den anderen Stadien des Parasiten unterschieden werden.

Die Sporoblasten zeigen immer mehrere Kerne, welche aber, weil in der Organisation und in kinetischer Tätigkeit begriffen, kein einförmiges und typisches Bild bieten. Sie bestehen aus grossen Chromatinkörnern von verschiedener Form, gewöhnlich von einem hellen Hofe umgeben und unregelmässig im Plasma verteilt (Taf. 5, Fig. 30 und 31).

Anfänglich sind die Sporoblasten rundlich oder eiförmig, wobei eine, im Innern des Ookineten gebildete Membran sie umgibt und

nucleos vão para as extremidades, sofrendo as células certo gráo de torsão em sentido longitudinal (fig. 34).

E' facil observar-se o cisto de esporoblasta, envolvido pela membrana propria, dentro daquela que foi proveniente da célula hospedeira (fig. 33, Est. 5). Entre estas 2 membranas, ás vezes, são observados os vestíjios residuais do microgametocito.

Muitas vezes se rompe a membrana propria do esporocisto, provavelmente por pressão determinada pelo crescimento dos esporoblastas, e, neste caso, um só deles fica dentro da membrana cística (fig. 32, Est. 5).

Para a formação dos esporozoítos, os esporoblastas sofrem duas divisões: na primeira cada um dá origem a 3 células; na segunda estas células se dividem por processo binario formando os esporozoítos. Quando se efetua essa primeira divisão cada esporoblasta apresenta uma nova membrana que envolve as células daí resultantes, (fig. 35).

A's vezes, os 3 esporoblastas, cada um envolvido por esta membrana, chegam a realizar toda sua evolução dentro da antiga membrana que tivera origem no oocineto, como nos mostra a fig. 35, onde, pela divisão binaria de cada uma das células, ficarão constituídos 3 cistos de esporozoítos. Devemos notar que esta figura não mostra mais a membrana que representa os vestíjios da célula em que evoluiu o coccidio.

Não soubemos minuciosamente os processos de divisão nuclear na multiplicação dos esporoblastas; parece que seus nucleos sofrem multiples estiramentos, estrangulando-se em seguida (figs. 31, 32, 33, Est. 5).

Cada esporoblasta dá um cisto de 6 esporozoítos (fig. 36, Est. 5); todavia acreditamos que, ás vezes, seja muito mais elevado o numero deles. Pensamos desse modo porque ha aspectos de cistos, como o da fig. 37, onde se observa, além da maior riqueza cromatica dos nucleos, um plasma cuja transparencia e feitió são absolutamente iguais aos dos esporozoítos dos cistos de 6 unidades.

verbindet; nachher strecken sie sich, die Kerne wandern an die Enden und die Zellen erleiden einem gewissem Grade von Torsion in der Längsaxe (Fig. 34).

Die Sporoblastenzyste, von der eigenen Membran umgeben, lässt sich leicht im Innern derjenigen erkennen, welche von der Wirtszelle herrührt (Taf. 5, Fig. 33). Zwischen diesen beiden Membranen sieht man zuweilen Spuren der Residuen des Mikrogametozyten. Manchmal zerreißt auch die Haut der Sporozyste, wohl in Folge des Druckes von Seiten der wachsenden Sporoblasten; es bleibt dann nur einer derselben im Innern der Membran (Taf. 5, Fig. 32).

Zur Bildung der Sporozoiten teilen sich die Sporoblasten zweimal; bei der ersten Teilung entstehen drei Zellen, bei der zweiten zerfallen diese in zwei Teile und bilden die Sporozoiten, deren jede wiederum bei der Bildung der Sporozoiten in zwei zerfällt. Bei der ersten Teilung zeigt jeder Sporoblast eine neue Membran, welche die neu entstehenden Zellen umgibt (Fig. 35).

Manchmal vollenden die drei von dieser Membran umgebenen Sporoblasten ihre Zweiteilung im Innern der ursprünglichen, im Ookineten gebildeten Membran, wie Fig. 35 zeigt, wo drei Zysten mit Sporozoiten zu sehen sind. Es ist zu bemerken, dass diese Figur die Membran nicht mehr zeigt, welche der ursprünglich von Coccidium befallenen Zelle entspricht.

Den Kernteilungsvorgang bei der Vermehrung der Sporoblasten habe ich nicht genau beobachten können; es scheint, dass die Kerne mehrfach in die Länge gezogen werden und sich dann durchschnüren (Taf. 5, Fig. 31—33).

Jeder Sporoblast wird zu einer Zyste mit 6 Sporozoiten (Taf. 5, fig. 36); doch glaube ich, dass gelegentlich ihre Zahl weit grösser ist. Man sieht nämlich Zysten (Fig. 37), wo man neben grösseren Chromatinreichtum der Kerne ein Plasma erkennt, welches in Gestalt und Durchsichtigkeit demjenigen der Zysten mit 6 Sporozoiten völlig gleich sieht.

Os esporozoitos são pequenos organismos alongados, recurvados, de plasma muito transparente e nucleo fortemente cromático.

Tivemos ocasião de encontrar uma vez o parasito representado na fig. 38, que pensamos ser uma forma anomala de microesquizonte ou gametocito, em virtude da estrutura finamente alveolar de seu plasma.

Considerações gerais.

Verificamos, pelo que ficou exposto, diferenças existentes nos processos citológicos da *Chagasella alydi*, *Chagasella hartmanni* e *Adelea ovata*, que basta fartamente para, justificando o novo genero, individualisar aquela especie.

Constatámos neste protozoario muitas das observações de SIEDLECKI, SCHAUDINN, LÉGER, JOLLOS, CHAGAS, e outros pesquisadores, realizadas no grupo dos coccidios, especialmente no genero *Adelea*, não tendo podido, porém, surpreender certas minucias, como o processo de formação e numero exato dos microgametas e o *fuso de copulação* no macrogameta.

Uma das particularidades mais curiosas, neste parasito, é a ausencia de processos de mitose homopolar em qualquer dos estadios de sua evolução.

A *triplice mitoze* que se realiza no oocineto (expressando certo gráo de *polienergia* nuclear, apesar de se efetuar em nucleo resultante da fusão de duas cromatinas diversas), e a formação de *policarios*, nas multiplicações de ambos os ciclos sexuais colocam a *Chagasella alydi*, em relação ás funções de seu nucleo, em elevado gráo de aperfeiçoamento no grupo dos coccidios, onde, já se havendo observado esse processo de multiplicação, permanece todavia com predominancia o de divisão binaria homopolar.

Outro fato interessante, aqui verificado, é a existencia muito frequente duma membrana, como verdadeira capsula, que circunda o parasito em diversos periodos de sua evolução.

Na *Chagasella hartmanni*, CHAGAS observou esta minucia e julga ser a membrana formada, provavelmente, pelo periplasto do coccidio. Na *Chagasella alydi* é possível tal orijem, mas estamos certo de que, a maioria

Die Sporozoiten sind kleine längliche und gebogene Organismen mit sehr hellem Plasma und chromatinreichem Kerne.

Allgemeine Beobachtungen.

Wie aus meiner Darstellung hervorgeht, konstatierte ich in den zytologischen Vorgängen bei *Chagasella alydi*, *Chagasella hartmanni* und *Adelea ovata* Unterschiede, welche die Aufstellung der neuen Gattung und die Unterscheidung der neuen Art rechtfertigen. Ich bestätigte bei derselben viele Beobachtungen, welche SIEDLECKI, SCHAUDINN, LÉGER, CHAGAS und andere Forscher bei den Kokzidien und besonders beim Genus *Adelea* gemacht hatten; dagegen gelang es nicht, gewisse Einzelheiten, wie die Bildungsweise und genaue Zahl der Mikrogameten und die Kopulationsspindel beim Makrogameten festzustellen.

Eine sehr merkwürdige Eigenheit dieses Parasiten ist das Fehlen einer homopolaren Mitose in allen seinen Entwicklungsphasen.

Die dreifache Mitose beim Ookineten (die eine gewisse Polyenergie andeutet, obwohl sie sich in einem Kerne vollzieht, der durch Verschmelzung von zwei Chromatinteilen verschiedenen Ursprungs gebildet wurde) und die Bildung von Polykarien bei Vermehrung der beiden ungeschlechtlichen Entwicklungskreisen stellen die *Chagasella alydi*, in Hinsicht auf die Kernfunktionen, auf eine hohe Stufe der Vervollkommnung in der Gruppe der Kokzidien. Zwar ist dieses Vermehrungsprozesses bei denselben bereits beobachtet; doch bleibt derjenige der homopolaren binaeren Teilung der vorwiegende.

Ein anderes, hier beobachtetes, merkwürdiges Faktum ist das Vorkommen einer Membran, welche in Form einer eigentlichen Kapsel den Parasiten während seiner verschiedenen Entwicklungsstadien umgibt.

CHAGAS beobachtete dieses Vorkommen bei *Chagasella hartmanni* und hält dafür, dass die Membran wahrscheinlich vom Periplaste des Kokzidiums gebildet sei. Bei *Chagasella alydi* ist diese Entstehung zwar möglich, doch bin ich sicher, dass sie in der

das vezes, ela provem dos restos da célula hospedeira, sendo portanto estranha ao parasito.

Os merozoítos penetram em uma célula, produzindo logo degeneração do plasma, que se torna muito vacuolizado (figs. 4, 5, Est. 4 — estas células são: a primeira dos ovários, a segunda do testículo do inseto). Em torno do parasito, às vezes, se esboça verdadeira membrana de defeza que a célula produz. É muito comum, dada a intensidade de infecção nos insetos contaminados, as células serem invadidas por mais de um merozoíto. Pelo crescimento, aí, eles se reúnem; a membrana que os envolvia em separado, provavelmente se destrói e o plasma celular, degenerado e liquefeito, é expelido da célula, persistindo somente a membrana em torno dos parasitos figs. 6, 7, 8, 14, 16, Est. 4).

Este fato torna-se muito evidente pela observação das figs. 6, 7, 8, onde, vemos indivíduos do mesmo sexo, ou melhor, do mesmo tipo de esquizogonia, envolvidos por membrana, a qual não pode deixar de ser senão a da célula em que evoluíram esses parasitos.

A fig. 6 representa três microesquizontes, estando o da parte central mais desenvolvido que os dois laterais.

A fig. 7 mostra dois parasitos em início de microesquizogonia, apresentando-se o núcleo da célula hospedeira, muito degenerado, como duas manchas escuras nos polos opostos.

A fig. 8, finalmente, oferece dois macrogametocitos dentro da membrana comum.

Outras vezes um só parasito evolue dentro da célula e apresenta também a mesma membrana, como nol-o mostram as figs. 14 e 16. Chegado o estado adulto, o coccidio entra em esquizogonia, permanecendo as unidades de segmentação, quasi sempre, incluzas na referida membrana (figs. 17, 18, 21, 22, 23, 24, Est. 4, 5).

Agora devemos referir a existência frequente de diversos microgametocitos, dois e três, associados ao macrogametocito, envolvidos todos por uma membrana. Acreditamos que este fato, muitas vezes, não signi-

Regel von den Resten der Wirtszelle herührt und deshalb dem Parasiten fremd ist.

Beim Eindringen in eine Zelle bewirken die Merozoiten sofort eine Degeneration des Plasmas, das stark vakuolisiert wird (vergl. Taf. 4, Fig. 4, eine Zelle des Ovariums und Fig. 5 eine solche des Hodens). Um den Parasiten markiert sich öfters eine wirkliche, von der Zelle zur Abwehr gebildete Membran. In Folge der intensiven Infektion ist es häufig, dass mehrere Merozoiten in dieselbe Wirtszelle eindringen. Hier nähern sich dieselben durch fortschreitendes Wachstum und die Einzelmembranen, welche sie trennen, gehen wahrscheinlich zu Grunde, während das degenerierte und verflüssigte Plasma aus der Zelle austritt und nur noch die Membran um die Parasiten übrig bleibt (Taf. 4, Fig. 6, 7, 8, 14 und 16).

Dieser Verlauf ist deutlich in den Figuren 6—8 zu erkennen, wo man verschiedene Individuen desselben Geschlechtes oder vielmehr desselben Schizogonietypus von derselben Membran umgeben sieht, welche nur diejenige der Wirtszelle sein kann.

Fig. 6 stellt drei Mikroschizonten dar, von denen der mittlere mehr entwickelt ist, als die beiden seitlichen.

Fig. 7 zeigt zwei Parasiten im Beginn der Mikroschizogonie, wobei der Kern der Wirtszelle sehr entartet erscheint und an den entgegengesetzten Polen zwei dunkle Flecken aufweist.

Fig. 8 zeigt endlich zwei Makrogametozysten im Innern einer gemeinschaftlichen Membran.

In anderen Fällen entwickelt sich nur ein Parasit in der Zelle und zeigt dieselbe Membran, wie in Fig. 14 und 16 zu sehen. Im letzten Stadium angekommen, geht das Kokzidium zur Schizogonie über, wobei die durch Teilung gebildeten Individuen fast immer in der Membran verbleiben (Taf. 4 und 5, Fig. 17, 18 und 21—24).

Es bleibt jetzt noch zu erwähnen, dass in einer gemeinschaftlichen Membran häufig zwei oder drei verschiedene Mikrogametozysten dem Makrogametozysten angelagert vor-

fica nenhum fenomeno previo de fecundação, expressando apenas a coincidência de evolução, em uma mesma célula, de diversos parasitos.

E' frequente encontrarmos figuras, como verdadeiras associações anômalas, constituídas de células diversas dentro de membrana comum; ás vezes acham-se reunidos dois macrogametocitos a um só microgametocito, outras vezes vimos uma célula em esquizogonia unida a gametocitos de sexos diversos.

E' possível, é quasi certo, que a fecundação neste coccidio se realice dentro da célula hospedeira, visto nunca se encontram unidos gametocitos de sexos diversos, sem que estejam envolvidos por membrana.

Pensamos não haver razão para considerarmos de natureza diversa a membrana existente nas formas que sofrem esquizogonia e aquella que se apresenta, envolvendo os gametocitos.

Neste coccidio ha, realmente, duas membranas proprias: uma, se forma em torno do oocineto, a outra aparece envolvendo os esporoblastas, quando se inicia a divisão deles.

Ao terminar cumprimos o grato dever de registar nossos melhores e mais sinceros agradecimentos ao Dr. ADOLPHO LUTZ, pelos grandes auxilios que nos dispensou na realização deste pequeno trabalho.

20—V—912.

kommen. Ich glaube, dass dies meistens nicht eine, die Befruchtung die einleitende Erscheinung ist, sondern nur einer gleichzeitigen Entwicklung mehrerer Parasiten in derselben Wirtszelle entspricht.

Häufig sieht man Bilder von ganz anormalen Vereinigungen, bei welchen sich verschiedene Zellen in derselben Membran vorfinden; manchmal trifft man zwei Makrogametozyten und nur einen Mikrogametozyten an; in anderen Fällen sahen wir eine Zelle in Schizogonie zusammen mit Gametozyten beiderlei Geschlechtes.

Es ist möglich, ja fast gewiss, dass die Befruchtung bei dieser Kokzidie in der Wirtszelle stattfindet, da man die Gametozyten verschiedenen Geschlechtes niemals ohne eine Hüllmembran antrifft.

Ich glaube, dass kein Grund vorliegt, die Membran der Schizogonieförmigen für verschieden von derjenigen zu halten, welche die Gametozyten umgibt.

Bei diesem Kokzidium gibt es tatsächlich zwei verschiedene Eigenmembranen; eine bildet sich um den Ookineten, die andere erscheint als Hülle der Sporoblasten, welche ihre Teilung eingehen.

Zum Schlusse erfülle ich eine angenehme Pflicht, indem ich Herrn Dr. ADOLPH LUTZ für die mir bei Ausführung dieser kurzen Arbeit gewährte Unterstützung meinen aufrichtigsten Dank ausspreche.

20—V—1912.

BIBLIOGRAFIA.

- CHAGAS, CARLOS 1910 Estudos de citolojia em nova especie de coccidio, *Adelea hartmanni*, do intestino do *Dysdercus ruficollis*. L. Mem. do Instituto Oswaldo Cruz Tomo II, pag. 168.
- HARTMANN, MAX 1909 Polyenergide Kern. Biolog. Centralbl. Bd. 29.
- JOLLOS, V. 1909 Multiple Teilung und Reduktion bei *Adela ovata*. Arch. f. Protistenkunde.
- LEGER, LOUIS 1904 Sporozoaires de l'*Embia Solieri*. Arch. f. Protistenkunde Bd. 3.
- LUEHE, M. 1906 In «Handbuch d. Tropenkrankh.» de MENSE.
- MACHADO, A. 1911 Sobre um novo coccidio do intestino de um hemiptero. Brazil-Medico No 39.
- SCHAUDINN, F. 1900 Untersuchungen ueber den Generationswechsel bei Coccidien. Zoolog. Jahrbuecher, Abt. f. Anatomie.
- SIEDLECKI, M. 1899 Etude cytologique et cycle évolutif de *Adelea ovata*. Annales de l'Institut Pasteur.



ESTAMPAS No. 4 e 5

Explicação das figuras

Os desenhos foram feitos com Obj. apocr. 2 mm. Zeiss e Oc. comp. 8. Alguns foram obtidos com Obj. hom. 1/12 de Zeiss e mesma oc.

Figs. 1, 2: Macromerozoitos.

- › 3 : Macroesquizonte jovem.
- › 4 : Celula do ovario parasitada por macroesquizonte muito jovem.
- › 5 : Muito jovens microesquizontes, parasitando uma celula do testiculo.
- › 6 : Associação de trez microesquizontes.
- › 7 : Associação de dois microesquizontes em inicio de esquizogonia.
- › 8 : Associação de dois macrogametocitos.
- › 9 : Microesquizonte, em cujo cariozoma são visiveis diversos centriolos.

Figs. 10, 11, 13: Macroesquizontes adultos.

- › 12, 14, 15, 16: Microesquizontes em inicio de esquizogonia.
- › 17, 18, 21: Formas segmentadas da microesquizogonia.
- › 19: Esquizogonia fóra de celula parasitada.
- › 20: Divisão provavelmente precoce em microesquizonte.
- › 22, 23, 24: Formas segmentadas na macroesquizogonia.
- › 25, 26, 27: Associação de gametocitos de sexos diversos e formação de microgametas.
- › 28, 29: Oococinetos em triplice mitose para formação de esporoblastas.

Fig. 30, 31, 32, 33, 34: Esporoblastas no esporocisto.

Figs. 35: Esporoblastas que já sofreram uma divisão para formar esporozoitos.

Figs. 36, 37: Cistos de esporozoitos.

- › 38: (?) Microesquizonte ou microgametocito anormalo.

TAFELN No. 4 und 5

Erklärung der Figuren.

Die Zeichnungen wurden mit Aproc. obj. 2 mm. und Comp. oc. 8 von Zeiss entworfen; bei einigen wurde Hom. Imm. 1/12 von Zeiss mit demselben Ocular verwendet.

Fig. 1,2: Makromerozoiten.

› 3: Junger Makroschizont.

› 4: Ganz junger Makroschizont im Innern einer Ovarialzelle.

Fig. 5: Ganz junge Mikroschizonten im Innern einer Hodenzelle.

Fig. 6: Vereinigung dreier Mikroschizonten.

Fig. 7: Vereinigung zweier Mikroschizonten im Beginn der Schizogonie.

Fig. 8: Vereinigung zweier Makrogametozyten.

Fig. 9: Mikroschizont der im Karyosom verschiedene Zentriolen zeigt.

Fig. 10—13: Erwachsene Makroschizonten.

Fig. 12—16: Mikroschizonten im Beginn der Schizogonie.

Fig. 17, 18 und 21: Mikroschizogonie. Teilungsformen.

Fig. 19: Schizogonie ausserhalb der Wirtszelle.

Fig. 20: Wahrscheinlich vorzeitige Teilung des Mikroschizonten.

Fig. 20, 23 und 24: Makroschizogonie. Teilungsformen.

Fig. 25—27: Vereinigung von Gametozyten verschiedenen Geschlechtes und Bildung von Mikrogameten.

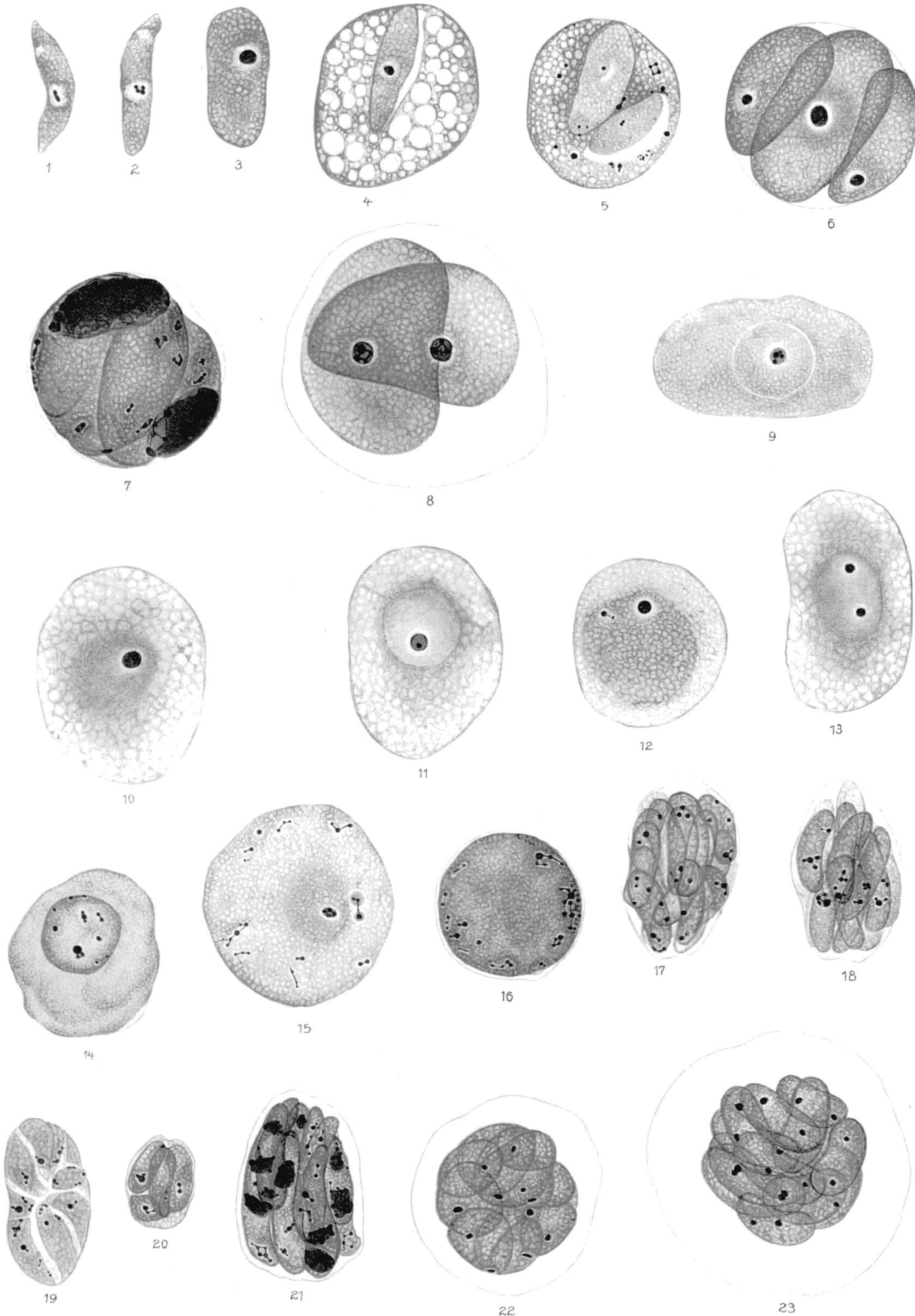
Fig. 28 und 29: Ookinet in dreifacher Mitose, welche die Sporoblastenbildung einleitet.

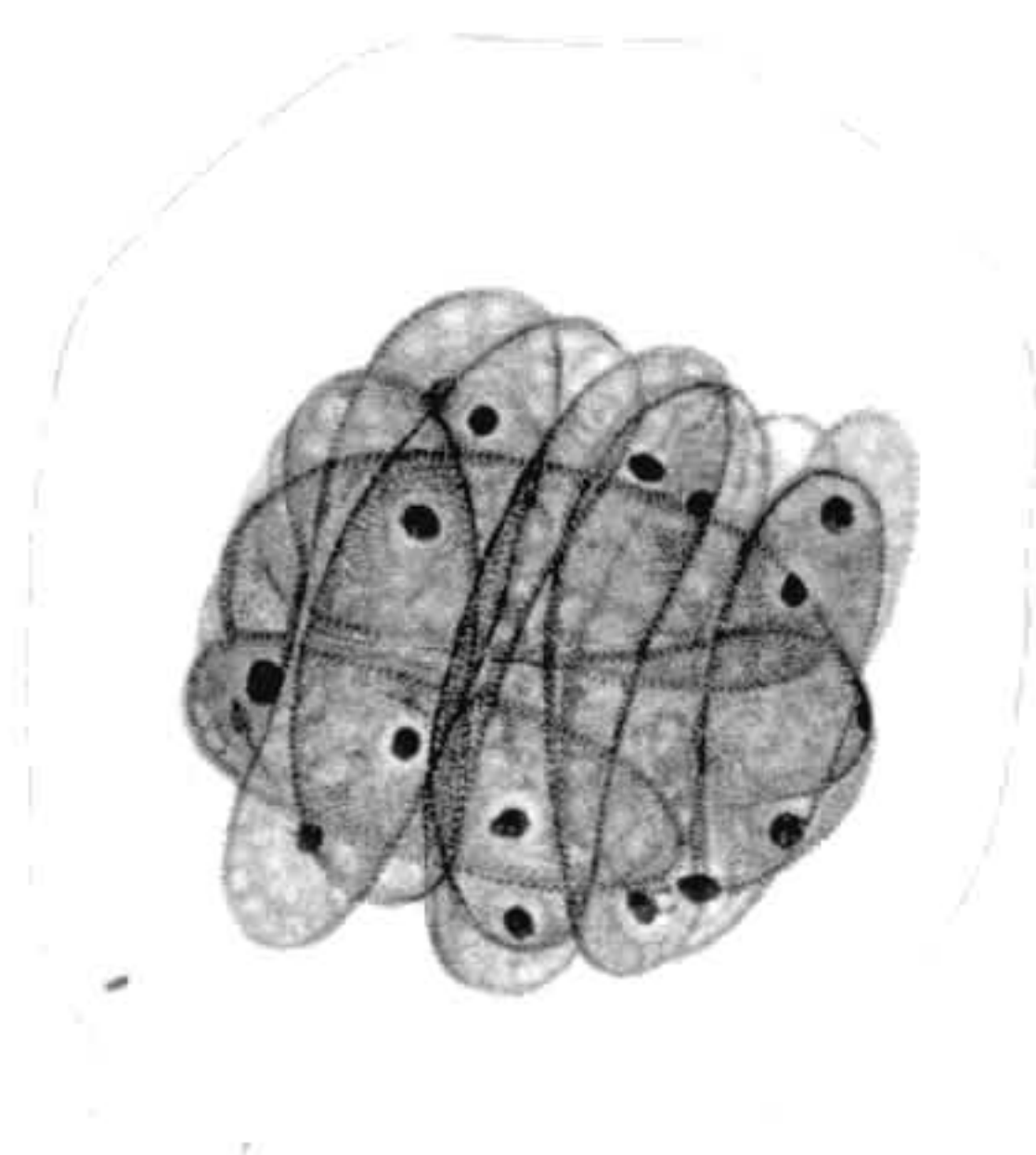
Fig. 30—34: Sporoblasten im Innern der Sporozyste.

Fig. 35: Sporoblasten, die sich für die Bildung der Sporozoiten schon einmal geteilt haben.

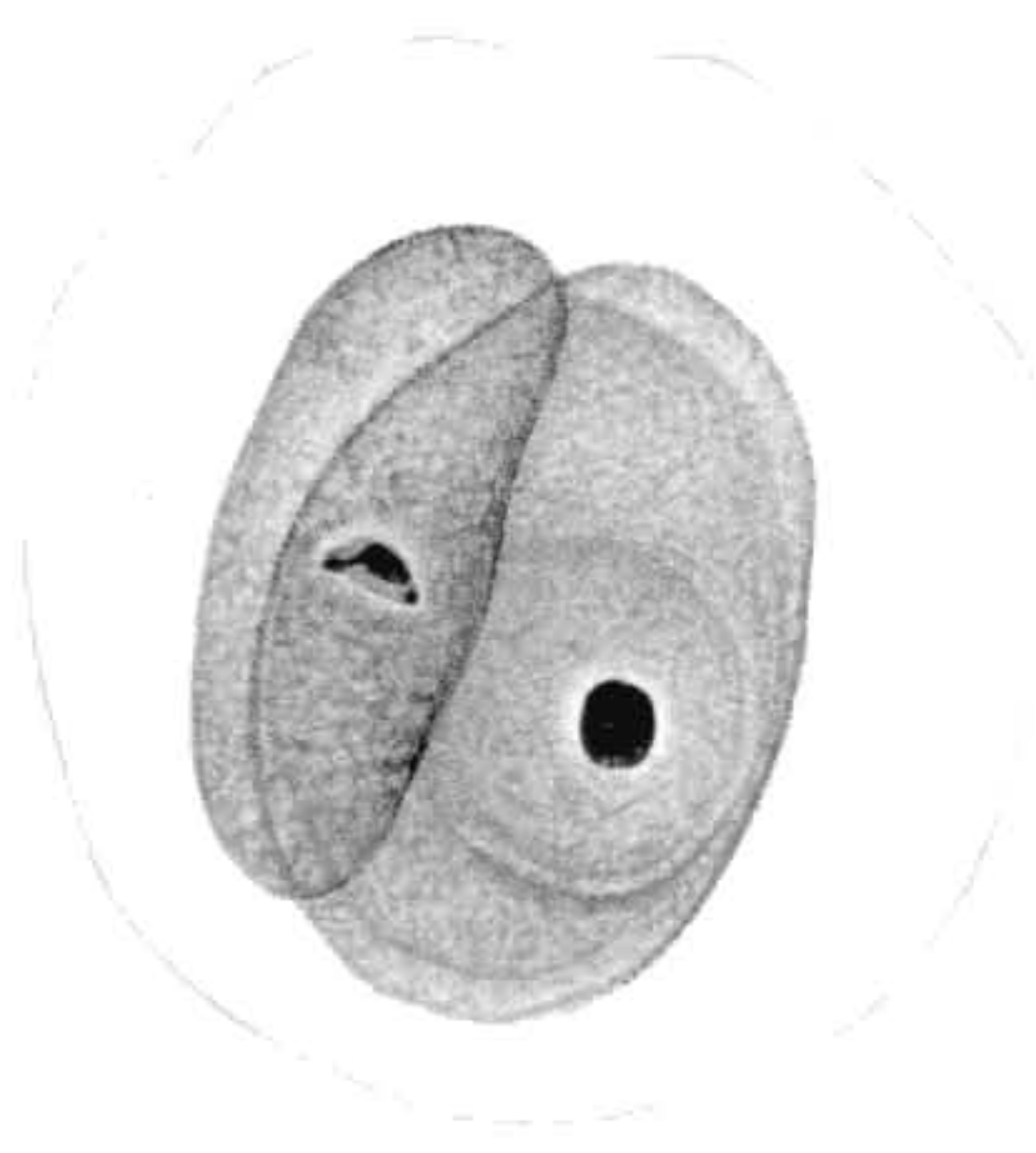
Fig. 35 und 37: Sporozoitenzysten.

Fig. 38: Mikroschizont oder anormaler Mikrogametozyt?

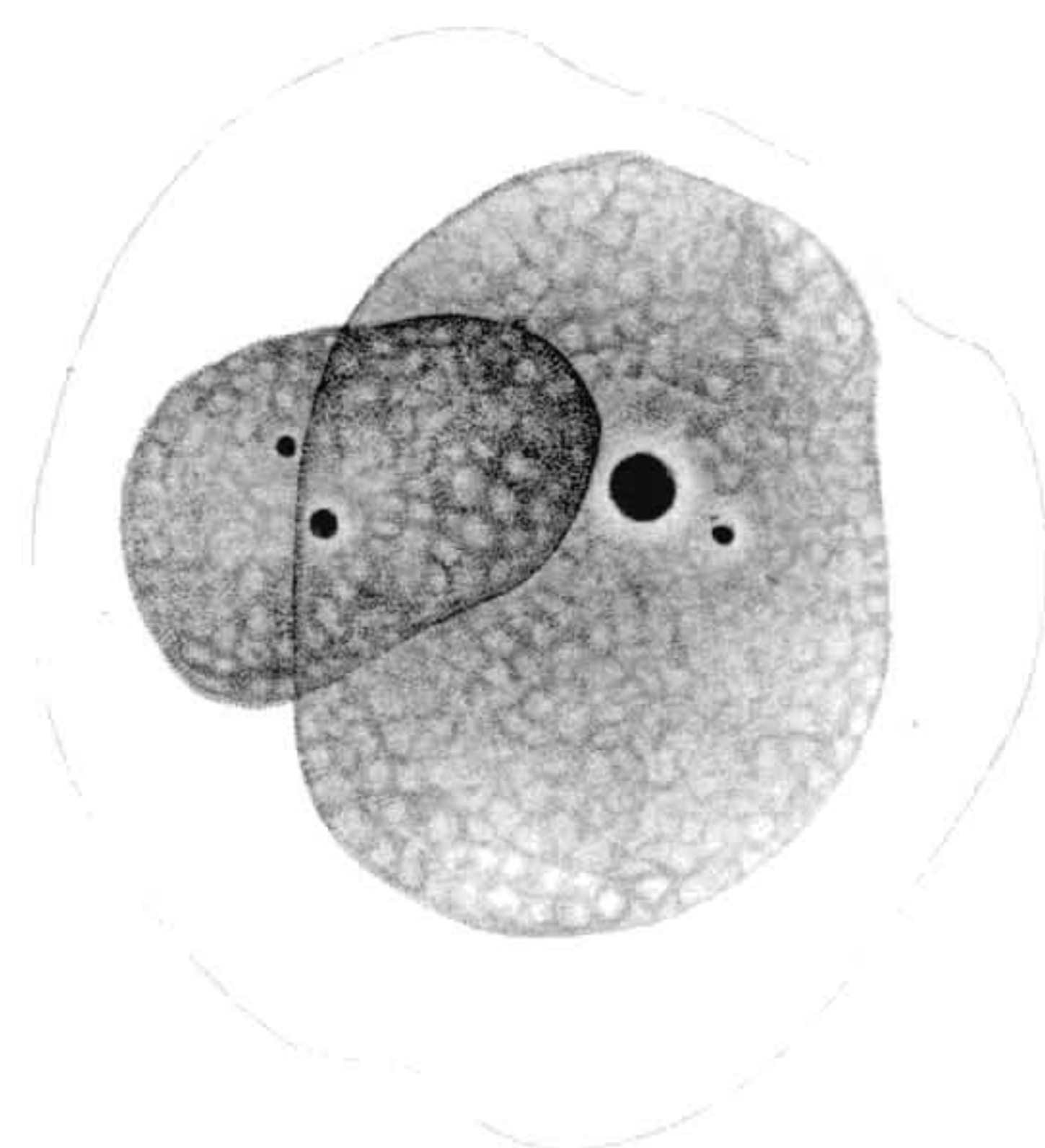




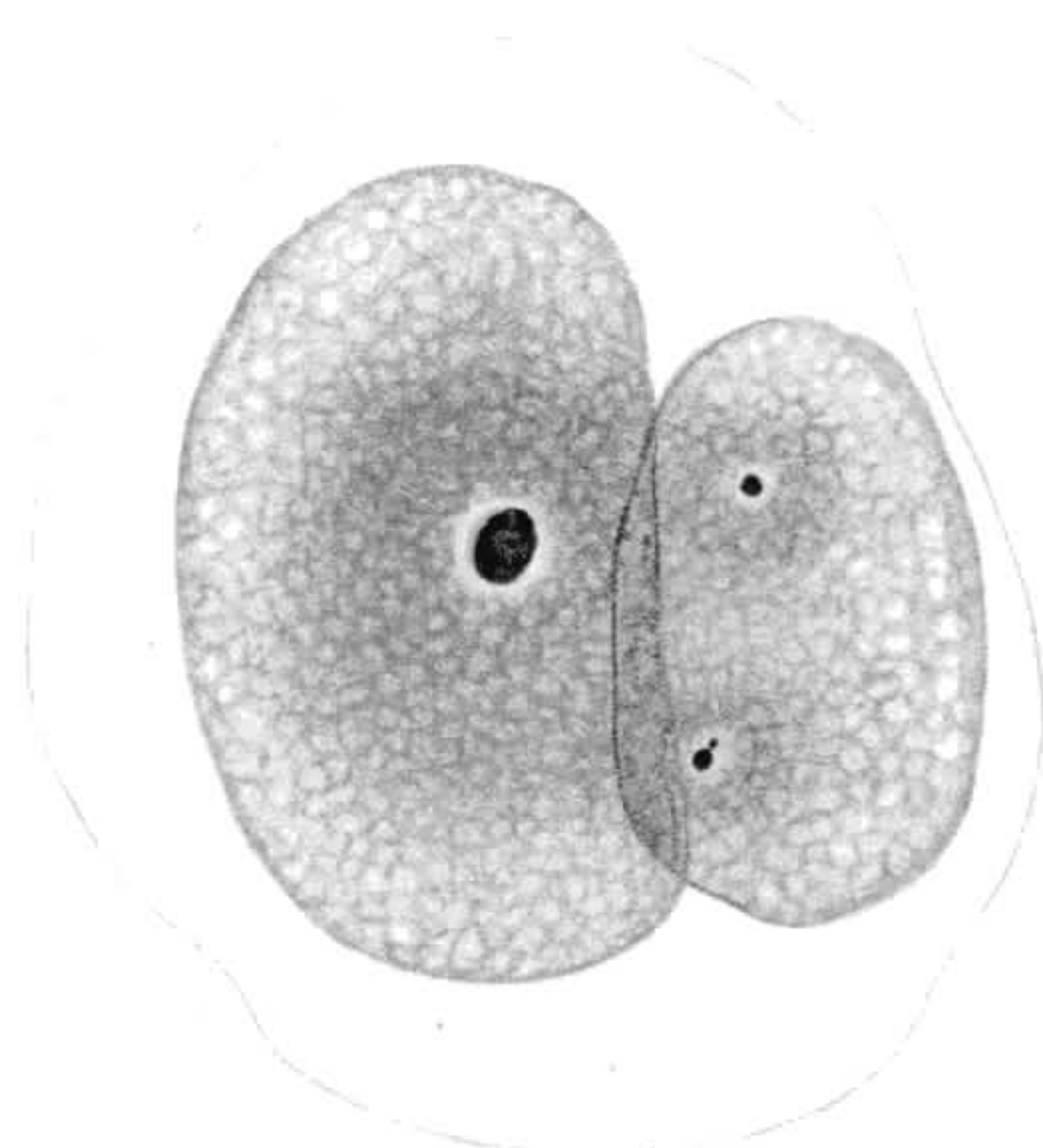
24



25



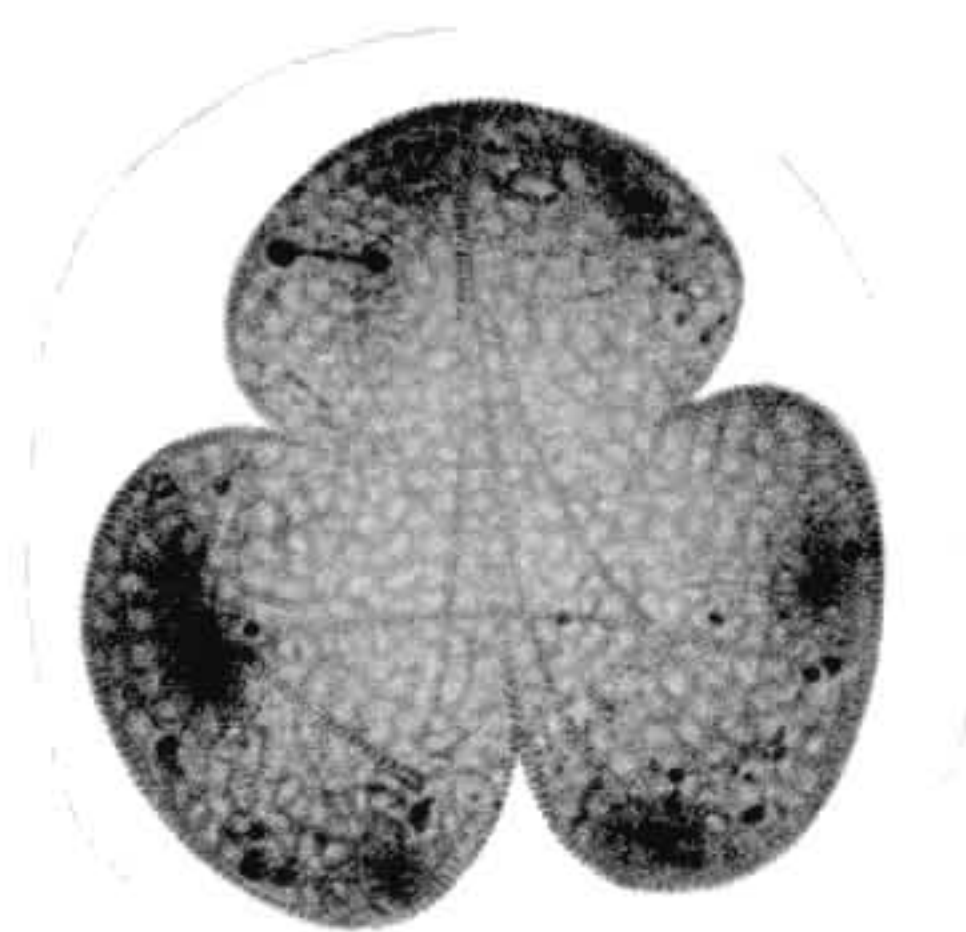
26



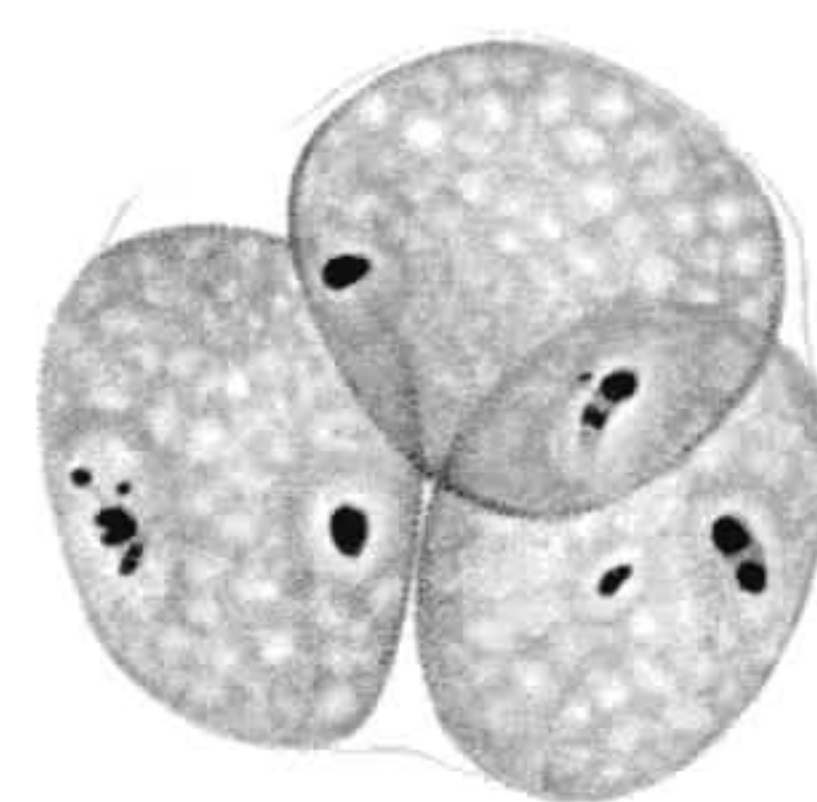
27



28



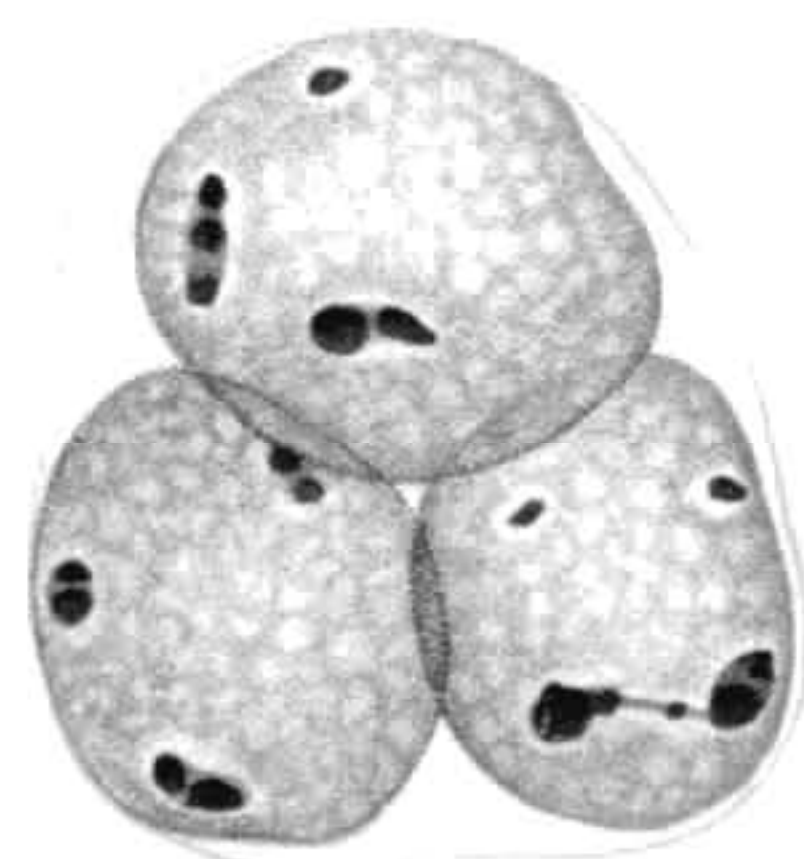
29



30



32



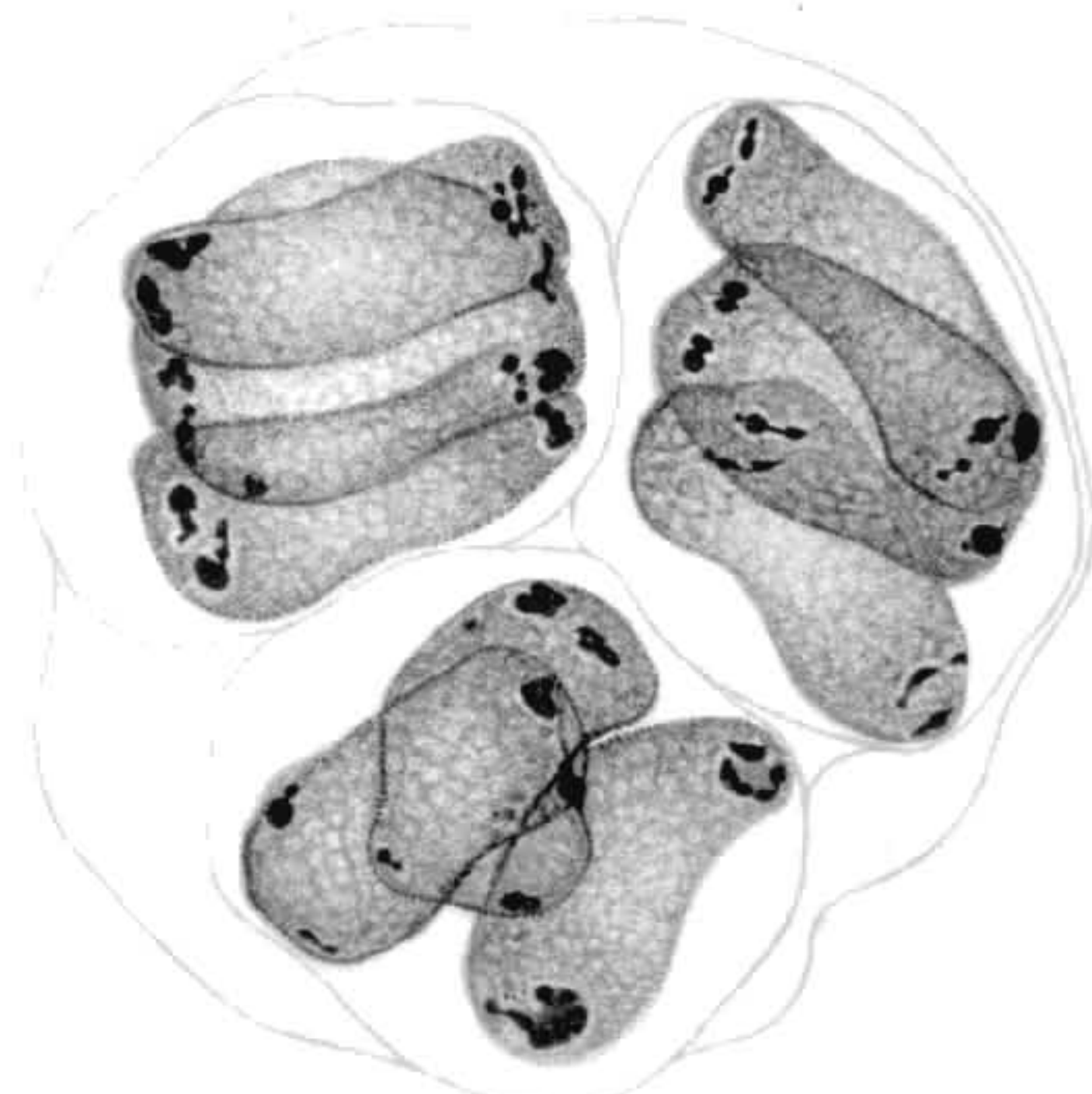
31



34



33



35



36



37



38