

INSTITUT FÜR DEN WISSENSCHAFTLICHEN FILM

Wissenschaftlicher Film C 683/1954

Aus dem Max-Planck-Institut für Biologie,
Abt. Prof. Dr. M. HARTMANN, Tübingen

Die Entwicklung von *Eucoccidium dinophili*

Von .

Prof. Dr. K. G. GRELL

Mit 1 Abbildung

GÖTTINGEN 1956

Die Entwicklung von *Eucoccidium dinophili*

Von Prof. Dr. K. G. GRELL

Der Film behandelt die Entwicklung des Coccids *Eucoccidium dinophili*. Die Aufnahmen zeigen die verschiedenen Entwicklungsstadien des Parasiten in der Leibeshöhle seines Wirtes, des marinen Archianneliden *Dinophilus gyrociliatus*. Die Sporogonie wird außerdem in Zeitrafferaufnahmen von Oocysten, welche in eine feuchte Kammer übertragen wurden, vorgeführt. Zum Schluß werden Oocysten gezeigt, welche aus röntgengeschädigten Sporozoiten hervorgegangen sind.

I. Allgemeine Vorbemerkungen

Die meisten Coccidien sind für Lebendbeobachtungen und experimentelle Untersuchungen ungeeignet, weil sie als Parasiten in den Geweben von Wirbellosen und Wirbeltieren vorkommen und ihr Wirt erst getötet werden muß, um sie überhaupt sichtbar zu machen. Bei dem vor wenigen Jahren entdeckten Coccid *Eucoccidium dinophili* läßt sich dagegen die ganze Entwicklung im Leben verfolgen, weil sein Wirt, der marine Archiannelide *Dinophilus gyrociliatus*, eine völlig durchsichtige Körperdecke besitzt. Dieses Coccid ist auch für experimentelle Untersuchungen geeignet, weil es mit seinem Wirt in ständiger Reinkultur gezüchtet werden kann [1]¹⁾.

Der Wirt ist ein kleiner, im ausgewachsenen Zustand etwa 800 μ großer Wurm, der sich mittels reifenartig angeordneter Wimperstreifen kriechend oder schwimmend umherbewegt. Seine Leibeshöhle ist einheitlich und wird nur von Parenchymsträngen durchzogen. Der Wurm lebt im algenreichen Litoral des Meeres und ernährt sich von Detritusteilchen, die er mit seiner ventralen Mundöffnung aufpipettiert und im Pharynx zerkleinert. Bei der Kultur kann man ihn mit hitzegetöteten Zellen einer marinen *Chlamydomonas*-Art ernähren. Die geschlechtsreifen Würmer legen Eigelege ab, in denen große Weibchen- und kleine Männcheneier durch eine gemeinsame Gallerte zusammengehalten werden. Aus den Männcheneiern gehen winzige darmlose Zwergmännchen hervor, welche die Weibchen bereits vor dem Verlassen des Geleges befruchten und dann absterben. Von dem Parasiten können daher nur die Weibchen befallen werden.

¹⁾ Siehe Literaturverzeichnis am Ende des Textes.

Der Parasit führt seine ganze Entwicklung, die in Abb. 1 schematisch dargestellt ist, in der Leibeshöhle des Wirtes durch. Sie unterscheidet sich von der anderer Coccidien dadurch, daß sie völlig extrazellulär und ohne Schizogonie verläuft. Darin stimmt *Eucoccidium dinophilii* mit den Eugregarinen überein. Der Wurm nimmt die Sporen des Parasiten mit der Nahrung auf. Diese platzen im Mitteldarm auf und entlassen die Sporozoiten, welche durch die Darmwand in die Leibeshöhle eindringen (1 u. 2 in Abb. 1). Hier wachsen sie unmittelbar zu den geschlechtlich differenzierten Formen heran (3). Aus den meisten Sporozoiten gehen Makrogamonten (8) hervor. Diese sind langgestreckte, zigarrenförmige Gebilde, welche in der Mitte einen großen, mit einem zentralen Nucleolus ausgestatteten Kern enthalten. Je nach der Infektionsstärke machen die Makrogamonten eine verschieden lange Wachstumsphase durch. Bei schwacher Infektion werden sie groß, bei starker bleiben sie klein. Nach Abschluß der Wachstumsphase nehmen sie eine ovale Gestalt an und werden damit zu Makrogameteten. Ein Teil der Sporozoiten entwickelt sich zu Mikrogamonten. Diese sind rund, umgeben sich mit einer Cystenhülle und führen eine multiple Teilung durch (4—6). Auf diese Weise entstehen aus jedem Mikrogamonten ca. 12—32 Mikrogameteten. Diese haben eine napfförmige Gestalt und besitzen zwei Geißeln von verschiedener Länge (7). Bei der multiplen Teilung bleibt ein Teil des Plasmas als „Restkörper“ übrig.

Nach Aufplatzen der Mikrogamontencyste schwimmen die Mikrogameteten frei in der Leibeshöhlenflüssigkeit des Wurmes umher. Wahrscheinlich werden sie chemotaktisch von den Makrogameteten angezogen. Nach der Befruchtung (9) streckt sich das Syngaryon in die Länge, wobei es nahezu die ganze Zygote durchzieht (10). Dieses Stadium wird als „Befruchtungsspindel“ bezeichnet und zeigt den Beginn der Meiose oder Reduktionsteilung an. Die Chromosomenreduktion ist bei den Coccidien mit der ersten Kernteilung der Zygote verbunden (zygotische Meiose). Alle Entwicklungsstadien (außer der Zygote) gehören also der Haplophase an. Nach der Meiose wird die Zygote als Oocyste bezeichnet. Ihr Cytoplasma zieht sich zusammen, so daß sich die Zellmembran als Oocystenhülle vom Zellkörper abhebt. Mit der Reduktionsteilung wird die Sporogonie eingeleitet, die bei den Coccidien auf zwei Phasen verteilt ist. Die erste Phase besteht in einer je nach der Oocystengröße verschiedenen Anzahl von Kernteilungen, die sich an der Oberfläche des Zellkörpers abspielen (11, 12). Nach Abschluß dieser Teilungsperiode umgibt sich jeder Kern mit einer bestimmten Plasmamenge. Auf diese Weise entstehen die Sporen oder Sporocysten, die innerhalb der Oocyste eine ovale Gestalt besitzen und zunächst noch einkernig sind (13). Ein Restkörper wird bei der Sporogonie nicht gebildet. Auf diesem Stadium platzen die Oocysten in der Leibeshöhle des Wurmes auf. Der Kern jeder Spore teilt sich dann zunächst zweimal hintereinander. Von den vier Tochterkernen teilen sich zwei abermals. Dadurch entstehen sechs Tochterkerne, von denen jeder zum Kern eines sichelförmigen Sporozoiten wird. Währenddessen nimmt die Spore eine spindelförmige Gestalt

an (14). Nachdem der Parasit seine Entwicklung abgeschlossen hat, stirbt der Wirt. Dadurch, daß die Körperdecke des Wurms aufplatzt, werden die Sporen frei und können von anderen Würmern gefressen werden.

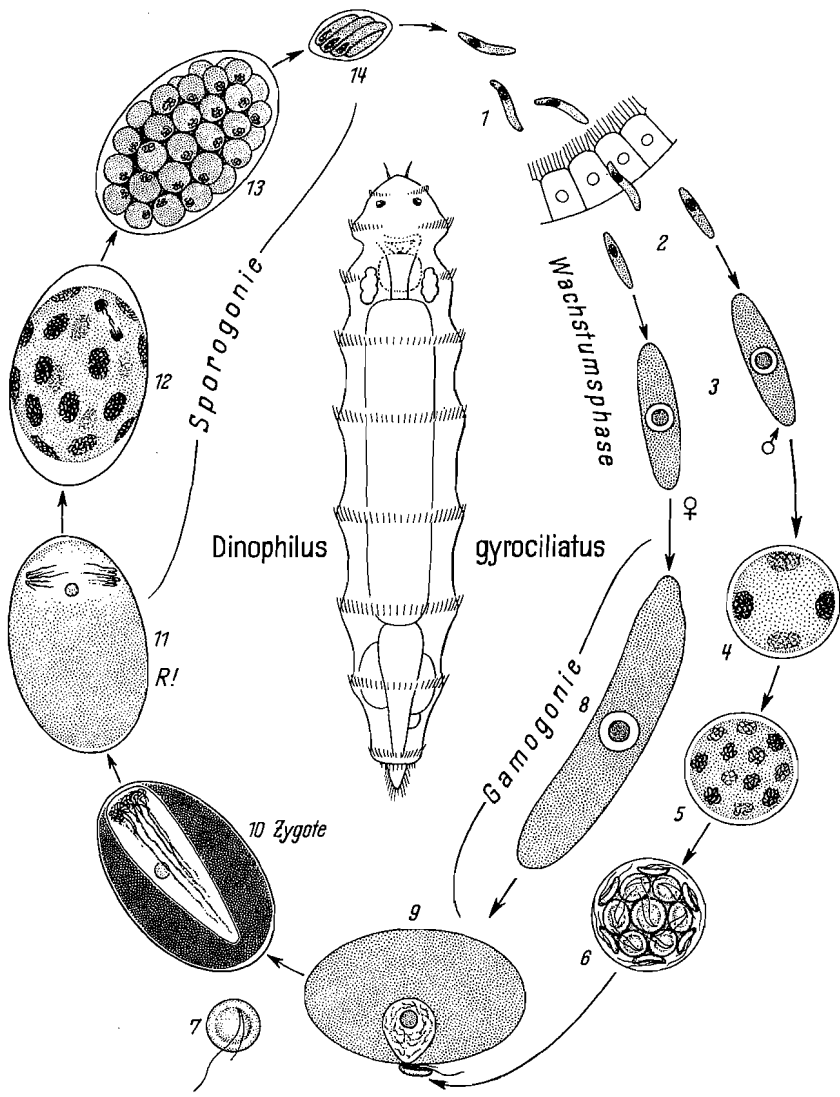


Abb. 1. Entwicklungszyklus von *Eucoccidium dinophili*
(Nach GRELL (1))

Wenn man die Würmer mit einer oder wenigen Sporen infiziert, entstehen nur Makrogameten, welche sich parthenogenetisch, d.h. ohne

Befruchtung und Meiose weiter entwickeln. In diesem Falle beginnt der haploide Kern des Makrogameten unmittelbar mit den Sporogonieteilungen. Mikrogamonten werden nur bei starker Infektion gebildet. Da dies auch der Fall ist, wenn die für die starke Infektion benutzten Sporen alle von der gleichen Spore abstammen, muß die Geschlechtsbestimmung phänotypisch sein. Wäre sie genotypisch, so müßten bei der Meiose geschlechtsbestimmende Gene verteilt werden, und jede einzelne Spore könnte entweder nur männlich oder weiblich sein.

Eucoccidium dinophili ist das erste Sporozoon, bei welchem eine parthenogenetische Entwicklung neben der bisexualen gefunden und phänotypische Geschlechtsbestimmung nachgewiesen wurde.

Behandelt man die Sporen mit Röntgenstrahlen, so kommt es zu Chromosomenbrüchen. Diese sind um so zahlreicher, je höher die Bestrahlungsdosis ist. Die Chromosomenbrüche beeinflussen die Wachstumsphase des Parasiten nicht. Sie wirken sich aber bei den Sporogonieteilungen aus. Infolge von Brückenbildungen können sich die Kerne nicht mehr voneinander trennen. Das hat zur Folge, daß das Plasma am Ende der Sporogonie nicht in gleich große Bezirke aufgeteilt wird, sondern in ungleich große Portionen, welche sich zwar mit einer „Sporenhülle“ umgeben, aber keine Sporozoiten auszubilden vermögen. Alle derart geschädigten Oocysten gehen zugrunde.

II. Erläuterungen zum Film

Der Film zeigt zunächst einen Wurm im Dunkelfeld, dessen Leibeshöhle mit verschiedenen Entwicklungsstadien von *Eucoccidium dinophili* angefüllt ist. Die Parasiten leuchten infolge ihrer intrazellulären Einschlüsse hell im Dunkelfeld auf. Beim Wechsel zum Hellfeld werden sie dunkel. Auf der folgenden Aufnahme sind mehrere Würmer zu sehen, die stark infiziert sind. Da der Wirt die Sporen nicht alle zur gleichen Zeit frißt, findet man die verschiedensten Entwicklungsstadien des Parasiten nebeneinander. Die Würmer liegen unter dem Deckglas und können sich daher nicht frei umherbewegen.

*Junge Wachstumsstadien Makrogamonten — Makrogameten*¹⁾

Wenige Tage nach der Infektion sind die jungen Wachstumsstadien, welche aus den in die Leibeshöhle eingedrungenen Sporozoiten hervorgehen, schon bei schwächerer Vergrößerung erkennbar. Sie haben ein zigarrenförmiges Aussehen. Ihr Kern befindet sich in der Mitte und erscheint im Durchlicht als helle Aussparung. Die meisten Wachstumsstadien sind Makrogamonten. Sobald sie eine bestimmte Größe erreicht haben, nehmen sie eine ovale Form an und werden damit zu Makrogameten. In den beiden Einstellungen, welche diese Stadien bei stärkerer Vergrößerung zeigen, sind auch schon einige Oocysten mit Sporen zu sehen.

¹⁾ Die *Kursiv*-Überschriften entsprechen den Zwischentiteln im Film.

Mikrogamonten — Mikrogameten

Bei den ganz kleinen Wachstumsstadien kann man noch nicht entscheiden, ob sie sich in weiblicher oder in männlicher Richtung weiterentwickeln. Die männlich determinierten, welche nur bei stärkerer Infektion entstehen, wachsen im Vergleich zu den Makrogamonten nur unbedeutend heran. Sie runden sich dann ab und werden zu den kleinen kugeligen Mikrogamontencysten, in denen die zur Gametenbildung führende multiple Teilung stattfindet.

Die nach dem obigen Titel folgende Einstellung zeigt zwei derartige Mikrogamonten bei Ausbildung der Mikrogameten (rechts im Bild). Einzelne Mikrogameten schwimmen frei in der Leibeshöhle umher. Auf dieser Aufnahme sind auch große Makrogamonten mit Kern und Nucleolus zu sehen. Bei stärkerer Vergrößerung werden dann einzelne Oocysten gezeigt, die von Mikrogameten umschwärmt werden. Man erkennt, daß sich die Mikrogameten ständig an der Oberfläche umherbewegen. Dieses Verhalten beruht offenbar darauf, daß den Oocysten-hüllen ein Stoff anhaftet, der die Mikrogameten chemotaktisch herbeilockt und innerhalb der Zone stärkster Konzentration „gefangen hält“. Der gleiche Stoff dürfte die Mikrogameten wohl auch vor der Befruchtung zu den Makrogameten hinlenken (Befruchtungsstoff, Gamon).

Meiose (Befruchtungsspindel) Sporogonie

In einer Übersichtsaufnahme werden zunächst drei Oocysten gezeigt, bei welchen das Synkaryon die als „Befruchtungsspindel“ bezeichnete spitzkegelförmige Gestalt besitzt. Dieses Stadium entspricht der frühen meiotischen Prophase und beruht auf der extremen Längsstreckung der Chromosomen.

In der folgenden Zeitrafferaufnahme¹⁾ (feuchte Kammer) sind drei Oocysten zu sehen, von denen die rechte bereits in Sporen aufgeteilt ist. Die beiden anderen Oocysten, bei welchen sich das Cytoplasma von der Zellmembran („Befruchtungsmembran“) zurückgezogen hat, befinden sich auf dem Stadium der „Befruchtungsspindel“. Durch Kontraktion der Chromosomen zieht sich das Synkaryon nach dem einen Pol der Oocyste zusammen. Daran schließen sich die Reduktionsteilung (Meiose) und die weiteren Kernteilungen der Sporogonie an. Diese verlaufen alle an der Oberfläche der Oocyste. Die Kerne sind zeitweise deutlich als helle Flecken erkennbar. Während die Sporogonie in der unteren Oocyste normal verläuft, bleibt in der oberen Oocyste ein großer Teil des Plasmas ungeteilt. Dieses abnorme Verhalten dürfte eine Folge von Chromosomenverklebungen oder -brüchen sein.

Parthenogenetische Sporogonie

Die nächste Zeitrafferaufnahme zeigt einen Makrogameten, dessen Zellmembran noch nicht abgehoben ist. Der Kern befindet sich in der Mitte. Ohne das Stadium der „Befruchtungsspindel“ auszubilden, rückt

¹⁾ Aufnahmefrequenz 1 B/Min.; bei der normalen Vorführgeschwindigkeit von 24 B/s also Zeitraffung auf $\frac{1}{1440}$.

der Kern an die Peripherie, während sich das Cytoplasma von der Zellmembran zurückzieht. Die folgende Einstellung zeigt weitere Sporogonieteilungen. Sobald die Sporen ausgebildet sind, wird wieder der ganze Raum der Oocyste ausgefüllt. Diese platzt schließlich auf, und die Sporen ergießen sich in das umgebende Seewasser. Beim Aufplatzen sind die Sporen einkernig. Die weiteren Kernteilungen finden außerhalb der Oocyste statt. Ihre definitive Form erhält die Spore erst, wenn die Sporozysten differenziert sind.

Im Anschluß an die Zeitrafferaufnahme werden noch einige Übersichtsaufnahmen von Würmern mit weiter fortgeschrittener Infektion gezeigt. Neben einzelnen Makrogamonten sieht man viele Oocysten mit Sporen.

Sporocysten

Die Entwicklung des Parasiten findet dadurch ihren Abschluß, daß die ganze Leibeshöhle des Wirtes mit Sporen angefüllt ist. Auf der ersten Übersichtsaufnahme ist nur noch eine einzelne nicht geplatze Oocyste zu erkennen. Die zweite Aufnahme zeigt einen Wurm, der nur noch Sporen enthält. An dem kollabierten Darm ist erkennbar, daß er die Nahrungsaufnahme eingestellt hat.

Die folgende Einstellung führt einzelne Sporen (Sporocysten) im Phasenkontrast vor. In der Mitte befindet sich eine geplatze Spore mit einem einzelnen Sporozysten. Etwas oberhalb davon ist noch ein freiliegender Sporozysten zu sehen.

Bei schwächerer Vergrößerung kann man beobachten, wie der Sporozysten aus der Spore herausgleitet, wobei er eine Spiralbahn beschreibt. Sobald er zur Ruhe gekommen ist, führt er langsame Drehbewegungen auf der Stelle aus.

Anomale Sporogonie nach Röntgenbestrahlung der Sporocysten

Nach einer Übersichtsaufnahme werden einzelne Oocysten gezeigt, welche aus Sporen hervorgegangen sind, die mit 2000 r bestrahlt wurden. In allen Oocysten ist das Cytoplasma am Ende der Sporogonie ungleich aufgeteilt. Keine dieser Oocysten ist noch imstande, normale Sporozysten auszubilden. Dieses Schädigungsbild ist eine Folge der durch die Röntgenstrahlen induzierten Chromosomenbrüche.

Literatur

1. GRELL, K. G., Entwicklung und Geschlechtsbestimmung von *Eucoccidium dinophili*. Arch. Protistenk. **99** (1953), S. 156—186.
2. GRELL, K. G., Röntgeninduzierte Chromosomenmutationen bei *Eucoccidium dinophili*. Arch. Protistenk. **100** (1954), S. 323—330.

(Eingegangen am 30. 7. 1955)