

ACTA PROTOZOO- LOGICA

REDACTORUM CONSILIUM

E. M. CHEISSIN (LENINGRAD), S. DRYL (WARSZAWA), A. GRĘBECKI (WARSZAWA),
O. JÍROVEC (PRAHA), G. I. POLJANSKY (LENINGRAD), Z. RAABE (WARSZAWA),
K. M. SUKHANOVA (LENINGRAD)

50 YEARS OF THE NENCKI INSTITUTE

VOLUMEN VI

Fasciculi: 27—35

W A R S Z A W A 1 9 6 8

ACTA PROTOZOOLÓGICA

Redaktor Naczelny: Zastępca Redaktora Naczelnego: Sekretarz Redakcji
ZDZISŁAW RAABE STANISŁAW DRYL STANISŁAW L. KAZUBSKI

NOTICE TO AUTHORS

Acta Protozoologica is intended as a journal serving for the publication of original papers embodying the results of experimental or theoretical research in all fields of protozoology with the exception of purely clinical reports. The papers must be concise and will not be accepted if they have been previously published elsewhere. After acceptance by the Editors papers will be printed in the order as they have been received, in the possibly shortest time.

Papers are accepted in English, French, German and Russian. Every paper should begin with the name and postal address of the laboratory, name and the surname of the author, title in the language of the text, and translation of the title into the author's own language. The paper should be accompanied by a summary in the language of the text, not exceeding 100 words, also the translation into the author's own language. The authors speaking English, French, German, or Russian should translate the title and the summary into another one of the 4 languages accepted in the Journal. In the Russian texts also the name and the postal address of the laboratory, legends of tables, plates and text-illustrations must be translated, the translation of the summary may be somewhat more extensive, and the name of the author should be given additionally also in the Latin characters.

Manuscript should be a doublespaced typescript (30 lines on one side of a sheet) with a normal margin. No elements of the text should be fully typed in capitals nor in spaced set (only underlining with pencil is admissible). In decimal fractions points (not commas) should be used. The generally accepted abbreviations and symbols are recommended. Nomenclature must agree with the International Code of Zoological Nomenclature, London 1961. The original and one carbon copy of the whole text material should be supplied.

References must be cited in the text indicating only the author and year, thus: "Kinoshita 1954 found that, etc." Only all references cited in the text should be listed. The list must be arranged as follows:

Ehret C. F. and Powers E. L. 1959: The cell surface of *Paramecium*. Int Rev. Cytol., 8, 97—133.

Gleib J. von 1939: Das äussere Stützgerüstsystem des Parameciumkörpers. Arch. Protistenk., 92, 245—272.

Titles of references are given in their original language (not translated). In papers written in English, French or German, the Cyrillic type of the Russian references is transliterated according to the international system (ISO Recommendation R 9 September 1954). This regulation is not applied to names if there exists their traditional spelling. Also author may freely choose the transliteration of his own name. In Russian papers, the Russian references are cited in Cyrillic, the others in the Latin characters, but they must be listed all together in the Latin alphabetical order.

The following material should be supplied on separate sheets: 1. the running title for the page headlines, 2. tables, 3. legends for text-figures, 4. legends for plates. Line-drawings will be published in the text, photographs and raster-figures on separate plates. No coloured photographs can be published presently. Lettering on photographs and drawings should be marked in pencil. With no regard to the language of the text, only the Latin lettering, arabic numerals or generally accepted symbols are admissible for marking on illustrations. Numbering of text-figures, plates and tables must also be marked in pencil, as well in the legends as in the text. Tables are denoted in English and in French—Table, in German—Tabelle, in Russian—Таблица. In English and French papers text-figures should be determined—Fig., in German—Abb., and in Russian—Рис. Plates are denoted in English and French—Pl., in German—Taf., in Russian—Табл.

Galley proofs are sent to the authors. Authors receive 100 reprints without covers.

Manuscripts may be submitted to each member of the Editorial Board or directly to the Office: Acta Protozoologica, Nencki Institute of Experimental Biology, Warszawa 22, ul. Pasteura 3, Poland.

I. B. RAIKOV and V. G. KOVALEVA

Complements to the fauna of psammobiotic ciliates of
the Japan Sea (Posjet gulf)Новые данные по фауне псаммофильных инфузорий Японского моря
(залив Посъет)

The first data on the psammobiotic¹ ciliate fauna of the Japan Sea, published by Raikov 1963, were at the same time the first ones concerning the sand dwelling ciliates of the entire Pacific basin. The specific composition of the Japan Sea ciliate fauna proved to differ from that of the seas of the Atlantic basin no more than the faunas of the latter seas differed from each other. Almost all the mass species were the same in the Atlantic area and in the Japan Sea. These observations enabled Raikov 1963 to support the hypothesis of Faure-Fremiet 1951 supposing a cosmopolitan geographical distribution of the psammobiotic species of marine ciliates.

In August 1967 we resumed studying the psammobiotic ciliates of the Japan Sea. The investigations were carried out in the Posjet gulf. As it turned out, the list of species published in 1963 and including 68 ciliates forms, can be considerably supplemented. The present paper contains the descriptions of several new species of psammobiotic ciliates found in Posjet, as well as materials on the morphology of some previously known species.

Material and methods

The main amount of material on psammobiotic ciliates was collected on the surf-sheltered north-west side of the sandy spit Churkhado (facing the Expedition bay). In this region, the sediments are represented by fine sand with more or less mud. No psammobiotic ciliates were found in muddy localities where hydrogen sulphide developed in the sediment. The richest fauna was always found in samples of relatively pure sand taken from water depths less than 0.5 m.

The surf-exposed south-east side of the Churkhado spit (facing the Pallada bay) proved to be very poor in ciliates, despite its very clean fine sand. Some

¹ The psammobiotic fauna (or mesopsammon) is a peculiar biocenosis inhabiting the capillary spaces between the sand grains in the superficial layers of intertidal or immersed sandy sediments.

ciliates were obtained also from samples of medium and coarse sand taken in the Novgorodskaja bay.

Samples of sand (about 200 cm³) were taken by scraping off its superficial layer (approximately 1 cm thick), and stored several days in glass jars (0.5 l) or polyethylene bowls under sea water. The ciliates were extracted from sand by shaking it in a Petri dish with sea water supplemented with 2 ml of 12 per cent MgCl₂ per dish. The magnesium chloride anesthetized the ciliates and reduces their ability to attach to sand grains (Fauré-Fremiet 1950).

Also a new method of extraction of psammobiotic organisms from the sediment, developed by Uhlig (1964, 1965), has been tested and found very useful. A small sample of sand was put into a wide polyethylene tube closed at the bottom end with mill gauze. The sand was covered by a sheet of cotton, onto which minced ice prepared by freezing sea water was placed. The melting ice at first produces water of higher salinity, which filters through the sand sample and seems to drive the ciliates out of it. The ciliates pass through the meshes of the gauze into a cup of sea water put under the apparatus.

The ciliates were identified in vivo and/or on whole mounts stained with hemalum, Feulgen, etc. or impregnated with silver after Chatton and Lwoff.

Description of species

Tracheloraphis lacteus sp. nov. (Fig. 1)

Body spindle-shaped, almost circular in cross section. The anterior end passes into a long, thin "neck" carrying a strongly inflated "head". The "head" is filled with refractory mineral granules which obscure the oral structures. Posterior body end rounded (Fig. 1 A). No contractile vacuole.

This species can be easily recognized even under a dissecting microscope due to opacity of its cytoplasm. In incident light (on dark background) the ciliates are milky white, with an even more brilliant white "head". The milky color of cytoplasm is peculiar also to *Tracheloraphis crassus* (Raikov 1963), but this species is always devoid of a granules-bearing "head".

The ciliature consists of approximately 40 longitudinal kineties. The dorsal glabrous stripe, characteristic of the genus *Tracheloraphis*, is very narrow and corresponds in width to only two kineties (Fig. 1 A—C). Approximately 12 kineties do not reach the body ends; they begin at the glabrous stripe and terminate against the same stripe (Fig. 1 C). Colorless spherical protrichocysts are arranged in single rows between the kineties (Fig. 1 B).

The nuclear apparatus is represented by a single nuclear group in the body middle (Fig. 1 D). It usually consists of four large micronuclei, occupying the center of the group, and eight oval or spherical macronuclei. Less frequent are two micronuclei and four macronuclei. The macronuclei never fuse into a "complex nucleus"; each of them contains a central nucleolus and peripheral chromocenters (Fig. 1 D).

Body length reaches at the full extension 1500 μ, at moderate contraction (as in Fig. 1 A)—about 850 μ. Movement gliding, thigmotaxis very strong (it is almost impossible to draw a specimen attached to glass surface into a micropipette). Biotope: fine, clean sand.

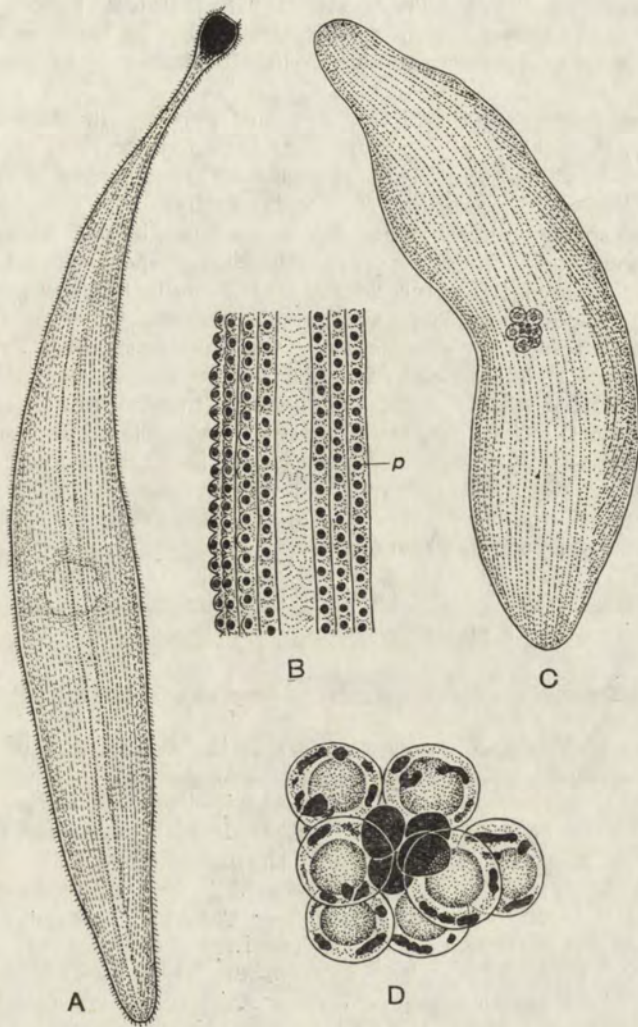


Fig. 1. *Tracheloraphis lacteus* sp. nov. A — living ciliate showing moderate contraction; B — dorsal body surface with glabrous stripe, methyl green-pyronin, 1725 \times (*p* — protrichocysts); C — fixed animal, dorsal view, Feulgen-light green, 260 \times ; D — nuclear group, Feulgen-light green, 1610 \times .

Besides the Japan Sea, this species inhabits the Black Sea (collections near Sevastopol by V. G. Koval'eva).

According to the body form and the character of the ciliature, *Tr. lacteus* evokes five other species of *Tracheloraphis*: *Tr. crassus* Raikov, 1963, *Tr. dicaryon* Raikov, 1963, *Tr. incaudatus* Kahl (see Dragesco 1960), *Tr. monocaryon* Dragesco, 1965 and *Tr. swedmarki* Dragesco (see below). All these species have rounded posterior ends, many kineties (30—40), and a relatively narrow glabrous stripe.

Tr. lacteus differs from *Tr. crassus* by its inflated "head", its protrichocysts (and not trichocysts), and most clearly — by its nuclear apparatus (*Tr. crassus* is a multinucleate form with a longitudinal row of free macronuclei and micronuclei).

The new species differs from *Tr. dicaryon* by its higher number of kineties (40 against 28—30), narrower glabrous stripe, larger protrichocysts and, first of all, by its nuclear apparatus (*Tr. dicaryon* has always two complex nuclei, each containing four micronuclei).

The new species differs from *Tr. incaudatus* by its higher number of kineties, larger body size, narrower glabrous stripe, and another number and structure of nuclei (*Tr. incaudatus* has a single nuclear group composed of several macronuclei and two very small micronuclei — see below).

Tr. lacteus resembles most closely the fourth species, *Tr. monocaryon* (Dragesco 1965). This species has also 40 kineties, a very narrow glabrous stripe (as wide as 2—3 kineties), and a single nuclear group. But *Tr. monocaryon* is smaller (500 μ), has a less prominent "head" and smaller protrichocysts, which are scattered between the kineties without order (not in single rows). Finally, the nuclear group of *Tr. monocaryon* consists of two small micronuclei and four macronuclei. These differences prevent identification of our form with *Tr. monocaryon*.

Finally, *Tr. lacteus* differs from *Tr. swedmarki*, described below, by its more numerous kineties, by its narrower glabrous stripe, and by another structure of its nuclear apparatus.

Tracheloraphis swedmarki Dragesco, 1960 (Fig. 2)

Our form of this species corresponds to the description of Dragesco 1960 according to all characters except the number of kineties. Dragesco indicates that *Tr. swedmarki*² has 12—13 kineties. Specimens of *Tr. swedmarki* from Posjet have 24 to 28 kineties; their glabrous stripe corresponds to 3 or 4 kineties; the posterior body end is rounded (Fig. 2 A).

The nuclear apparatus of *Tr. swedmarki* from Posjet always consists of four macronuclei and two micronuclei composing a single nuclear group (Fig. 2 A—C). The macronuclei never fuse into a complex nucleus and even never become closely opposed to each other. They contain one or several nucleoli (Fig. 2 B) and sometimes also proteinaceous crystalloids (Fig. 2 C).

An identical form of *Tr. swedmarki*, with 20—26 kineties, has been found also in the Black Sea (Kovaleva 1966 and unpublished data).

Tracheloraphis incaudatus (Kahl, 1933) Fig. 3 A—B

Tr. incaudatus f. *quadr micronucleata* forma nova (Fig. 3 C—E)

Tracheloraphis incaudatus is known to occur in all geographical regions heretofore studied (for reviews see: Raikov 1963, Kovaleva 1966, Agamaliyev 1967). Despite its wide distribution, this species is morphologically very constant. *Tr. incaudatus* from Posjet gulf (Fig. 3 A), as well as

² In the paper of Dragesco 1960, two figures seem to be erroneously interchanged: *Tr. swedmarki* is shown in Fig. 49 B (and not 53 A), and *Tr. prenanti*, in Fig. 53 A (and not 49 B).

Tr. incaudatus from the Ussuri gulf of the Japan Sea (collections of 1962), seem to be fully identical with the type form of this species described by Dragesco 1960. The number of kineties varies from 28 to 32, the glabrous stripe is as wide as four kineties, the posterior body end is rounded (Fig. 3 A).

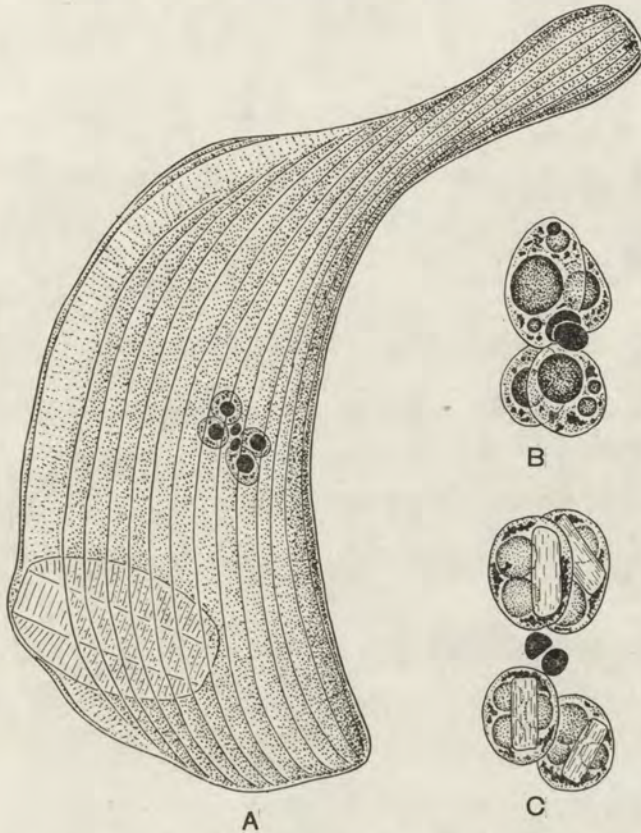


Fig. 2. *Tracheloraphis swedmarki* Dragesco. A — fixed animal viewed from the right, hemalum, 650 \times ; B — nuclear group (4 macro- and 2 micronuclei), hemalum, 1610 \times ; C — nuclear group showing crystalloids in macronuclei, Feulgen-light green, 1610 \times .

The nuclear apparatus consists of a single group of 6 to 8 macronuclei closely opposed to each other and frequently fusing into a complex nucleus. Two very small (1—1.5 μ) micronuclei occupy the center of the nuclear group (Fig. 3 B).

Parallel with typical *Tr. incaudatus*, a form of this species which always has not two but four small micronuclei (Fig. 3 C—E) occurs in the Japan Sea. The number of kineties varies in this form from 24 to 30, the glabrous stripe corresponds in width to four kineties, the posterior body end is rounded (Fig. 3 C). The two forms are indistinguishable in vivo. The nuclear group of the new form consists of eight macronuclei and four small micronuclei (Fig. 3 D). The macronuclei often contain, besides the nucleoli, proteinaceous

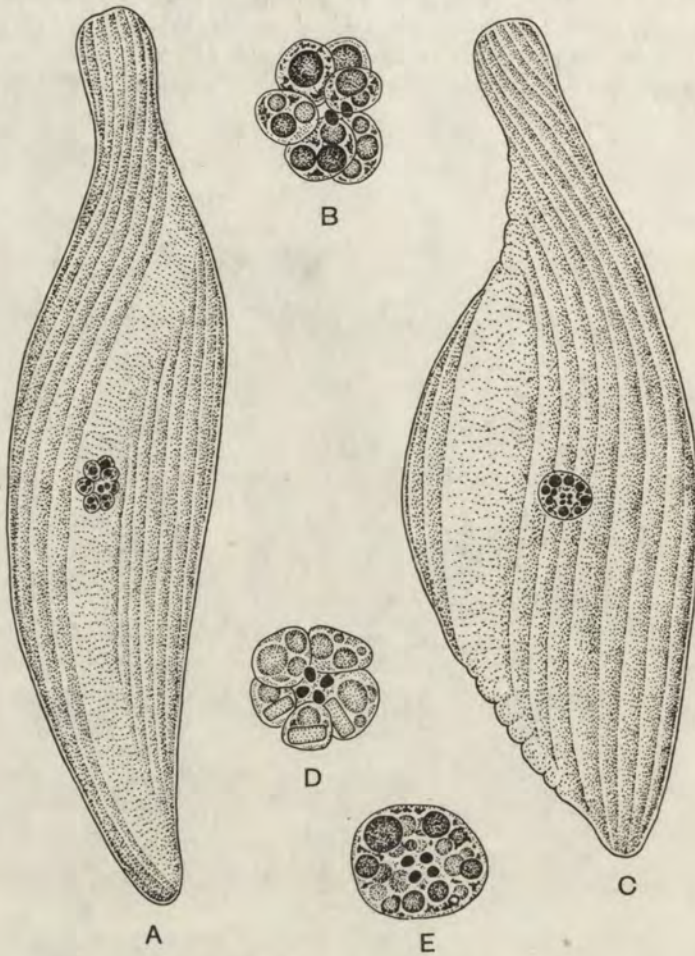


Fig. 3. A, B — *Tracheloraphis incaudatus* (Kahl): A — fixed animal, dorsal view, hemalum, 650 \times ; B — nuclear group (6 macronuclei, 2 micronuclei), hemalum, 1610 \times . C—E — *Tracheloraphis incaudatus* f. *quadrimicronucleata* f. nov.: C — fixed animal, dorsal view, hemalum, 650 \times ; D — nuclear group with 4 micronuclei and macronuclei containing crystalloids, Feulgen-light green, 1610 \times ; E — complex nucleus containing 4 micronuclei, hemalum, 1610 \times .

crystalloids. The macronuclei may fuse with each other into a single complex nucleus, the micronuclei thus getting inside it (Fig. 3 E). We suggest to name the new form *Tr. incaudatus* f. *quadrimicronucleata* forma nov.

Tr. incaudatus f. *quadrimicronucleata* has been found in the sands of both the Posjet gulf (1967) and the Ussuri gulf (1962) of the Japan Sea.

Tr. incaudatus f. *quadrimicronucleata* may correspond to a form identified by Dragesco 1963 a as *Tr. gracilis*. In the original description of *Tr. gracilis* (Dragesco 1960) and in a later paper (Dragesco 1965), the French author indicates that *Tr. gracilis* has only 12—13 kineties and two

micronuclei within the nuclear group³. But in his paper of 1963 Dragesco asserts "*Tr. gracilis*" to have 22—28 kineties and a nuclear group with four micronuclei. The identification of this form, found in Roscoff, with *Tr. gracilis* is apparently erroneous; this form might have been *Tr. incaudatus* f. *quadrимicronucleata*.

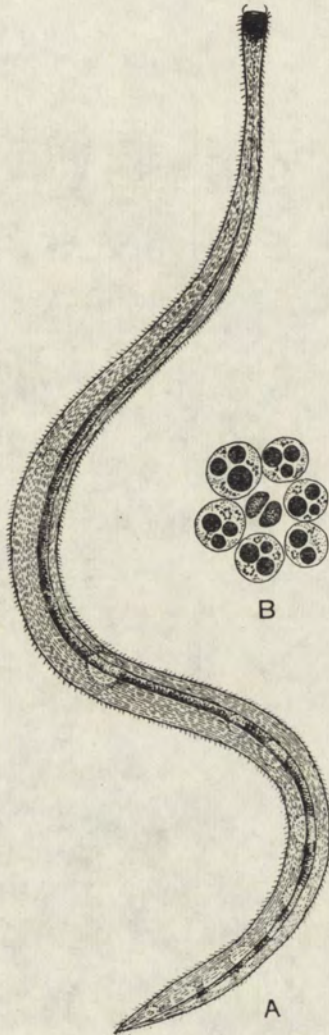


Fig. 4. *Tracheloraphis remanei* Dragesco. A — dorsal view of living animal; B — nuclear group, methyl green-pyronin, 1610X.

³ We actually found *Tr. gracilis* with this number of kineties and nuclei also in Posjet.

Tracheloraphis remanei Dragesco, 1960 (Fig. 4)

Our specimens of *Tr. remanei* conform to the original description of this species (Dragesco 1960) by their body form and size, by the furrow-like invagination of their dorsal glabrous stripe (Fig. 4 A), by the structure of their "head", mouth, and nuclear apparatus. The latter consists of six macro-

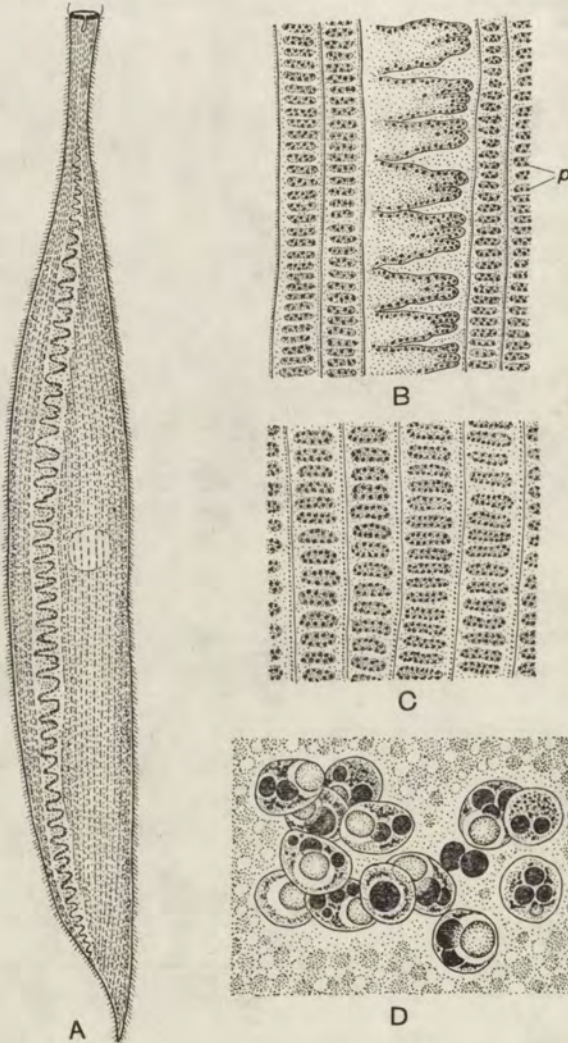


Fig. 5. *Tracheloraphis serratus* sp. nov. A — moderately contracted living animal; B — part of dorsal body surface showing glabrous stripe, methyl green-pyronin, 1610 \times (*p* — protrichocysts); C — part of ventral body surface showing protrichocysts in pellicular knobs, methyl green-pyronin, 1610 \times ; D — nuclear group: 13 macronuclei with proteinaceous spherical crystalloids (light) and nucleoli (dark), and 2 micronuclei, hemalum, 1610 \times .

nuclei and two micronuclei, gathered into a single nuclear group (Fig. 4 B). The original description says nothing about the number of kineties in *Tr. remanei*. According to our data, this number is approximately 40.

Tracheloraphis serratus sp. nov. (Fig. 5)

Body fusiform (Fig. 5 A), markedly flattened dorso-ventrally. The body forms anteriorly a comparatively short "neck", without any inflated "head". General body color brown (depending on the dark-brown color of the protrichocysts). Mouth terminal, funnel-shaped, with a longitudinal slit at its dorsal edge. The mouth edge has the appearance of a dark-brown ring, due to the presence of a paroral circle of protrichocysts.

Posterior body end pointed, but not drawn into a long "tail". Contractile vacuole absent. Body length at full extension about 1500 μ , during moderate contraction (as in Fig. 5 A) — about 750 μ .

Ciliature consisting of 40—45 meridional kineties. Dorsal glabrous stripe comparatively narrow, corresponding to 3 to 5 kineties. This stripe is clearly seen in living animals due to the zigzag or dentate pattern of arrangement of brown protrichocysts on the stripe (Fig. 5 A). Fixed preparations show that protrichocysts are actually located at the edges of triangular protrusions of cytoplasm departing from the left side of the glabrous stripe (Fig. 5 B). This produces the zigzag pattern of protrichocysts in living animals.

Not all kineties reach the body ends. Sixteen to twenty kineties start deviating from glabrous stripe at its right side and terminate against the same stripe in the posterior third of the body (Fig. 5 A).

Protrichocysts small (less than 0.5 μ in diameter), spherical (Fig. 5 B, C). They occupy the edges of ectoplasmic protrusions between the kineties (Fig. 5 C).

The nuclear apparatus (Fig. 5 D) consists of a single loose nuclear group in the middle of the body. This is composed of 8—12 macronuclei and 2 micronuclei. The macronuclei are oval, contain several nucleoli and less stainable proteinaceous crystalloids of spherical form (Fig. 5 D). Micronuclei are approximately 2.5 μ in diameter.

Biotope: fine, somewhat muddy sand of the Japan Sea.

This large, brown, flattened form in vivo resembles *Tr. fasciolatus* (Sauerbrey) (see: Kahl 1930—1935, 1933, Dragesco 1960), *Tr. margaritatus* (Kahl) and *Tr. dogieli* (Raikov) (see: Raikov 1957, 1962, Dragesco 1963 a). But *Tr. serratus* differs from these three species by the zigzag pattern of protrichocysts on its dorsal stripe and most sharply — by the structure of its nuclear apparatus (all the three species named above are multinucleate, with nuclei scattered throughout the cytoplasm).

Living specimens of *Tracheloraphis serratus* resemble also those of *Tr. caudatus* Dragesco et Raikov, 1966 by the number of kineties, width of the glabrous stripe, brown color, and body size. But *Tr. caudatus* has a longer "neck" and a definite "tail", has no zigzag line of protrichocysts on the glabrous stripe and, first of all, has many nuclear groups containing 4 macronuclei and 2 micronuclei each.

The above described species differs from *Tr. vermiformis* Raikov, 1962 by its brown body color, smaller number of kineties, wider glabrous stripe, larger number of macronuclei and much smaller size of both macronuclei and

micronuclei. Other species of *Tracheloraphis* having a single nuclear group and a pointed posterior body end have considerably less kineties and no brown color.

Revision of the species *Tracheloraphis prenanti* Dragesco

Describing the species *Tr. prenanti*,⁴ Dragesco, 1960 considers it to be characterized by the following features: body very elongate (thread-like), markedly flattened, with thin "neck" and pointed tail forming a slight hook at the extremity; mouth simple, funnel-like; dorsal glabrous stripe wide; protrichocysts oval, colorless; nuclei united into a complex nucleus ("capsule nucléaire") or a tight group consisting of 6—8 macronuclei and 2—3 micronuclei; pellicle showing transverse folding in contracted animals; endoplasm transparent. As to the number of kineties, Dragesco distinguishes two forms of this species: with 20—25 and with 14—17 kineties. According to Dragesco, the body length strongly varies in *T. prenanti* — from 400 to 2000 μ .

Later on, this description proved likely to unite an entire group of related forms or species. In the White Sea, Raikov 1962 found only the form with 15—18 kineties and two micronuclei. In Roscoff, Dragesco 1963a, discovered a form of *Tr. prenanti* with 22—24 kineties, which had not 6—8 but 16 macronuclei within the "nuclear capsule". In the Black Sea, both the form with 14—17 kineties and that with 20—24 kineties occur; both have two micronuclei within the complex nucleus (unpublished data by V. G. Kovaleva). In the Caspian Sea, Agamaliyev 1966a found mass populations of the form of *Tr. prenanti* which has 15—17 kineties and a single nuclear group containing 6 macronuclei and 2 micronuclei. The same form has been found in the Barentz Sea by Kovaleva 1967.

Related to the "*Tr. prenanti*" group is also *Tracheloraphis sarmaticus* Agamaliyev et Kovaleva (in Agamaliyev, 1966), described from both the Caspian and Black seas. Almost all the features enumerated above and considered by Dragesco 1960 characteristic of *Tr. prenanti* are applicable also to *Tr. sarmaticus*; the number of kineties is 13—17. This form has been considered a new species because of its less elongate body form and primarily because it has not two but four to eight micronuclei within the complex nucleus.

In the Japan Sea, Raikov 1963 found already three forms united, in a provisory manner, under the name *Tr. prenanti*. The first form has 14—17 kineties and two micronuclei; the second one, 20—24 kineties and also two micronuclei; the third one, 16 kineties and two complex nuclei with two micronuclei in each. Working in Posjet, in 1967, we found all the three forms again. Clearly time has come to revise the species *Tr. prenanti* and to give to its forms a definite taxonomic status. We suggest to designate the first form as *Tr. prenanti* f. *oligocineta*, the second one, as *Tr. prenanti* f. *multicineta*, and to separate the third form into a new species, *Tr. similis* sp. nov.

Tracheloraphis prenanti Dragesco, f. *oligocineta* forma nova (Fig. 6)

Body elongate, spindle-shaped, somewhat flattened, with a long anterior "neck" carrying an inflated "head" filled with mineral granules (Fig. 6 A).

⁴ Dragesco's book (1960) seems to contain a printer's error: *Tr. prenanti* is shown in Fig. 53 A, not in Fig. 49 B, as indicated in the text and in the figure legend.

"Tail" pointed, bent to a side at the extremity. Mouth funnel-shaped, surrounded with longer cilia.

Ciliature consisting of 14—18 longitudinal kineties (usually 16). Dorsal glabrous stripe wide, corresponding to 6—8 kineties (Fig. 6 A). The surface of the glabrous stripe shows transverse folds, especially upon contraction (Fig. 6 C).

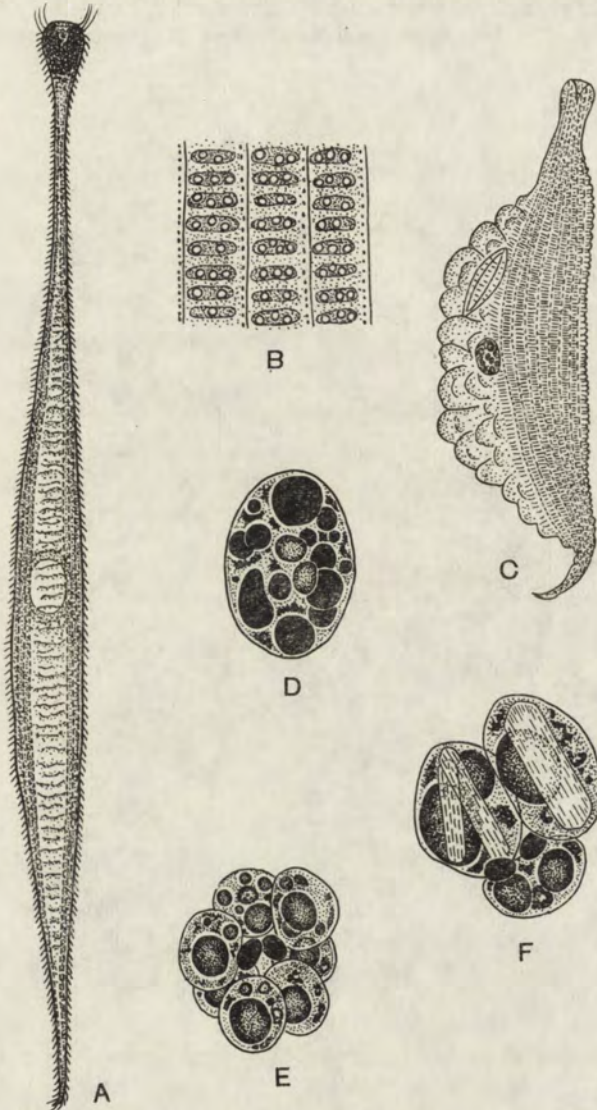


Fig. 6. *Tracheloraphis prenanti* f. *oligocineta* f. nov. A—dorsal view of living animal; B—body surface showing colorless protrichocysts in pellicular interkinetal knobs (in vivo); C—fixed animal, right view, hemalum, 365 \times ; D—complex nucleus with two central micronuclei and peripheral nucleoli (dark), hemalum, 1725 \times ; E—nuclear group (8 macronuclei, 2 micronuclei), methyl green-pyronin, 1725 \times ; F—nuclear group with large crystalloids in macronuclei, methyl green-pyronin, 1725 \times .

The pellicle between the kineties is also transversely plicated (Fig. 6 B, C). Protrichocysts oval, colorless, localized on the interkinetal pellicular knobs (Fig. 6 B) and on the glabrous stripe. Living ciliates colorless, transparent. Body length 500—1000 μ .

A single complex nucleus in the body middle (Fig. 6 D) containing nucleoli and chromatin granules of the fused macronuclei as well as two micronuclei about 2 μ long. The complex nucleus often fragments into its component

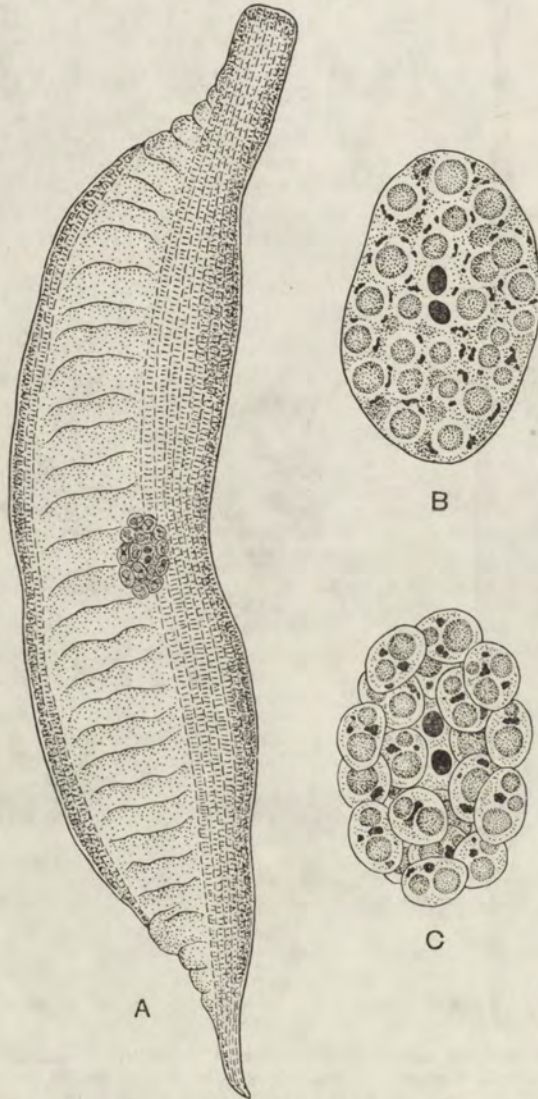


Fig. 7. *Tracheloraphis prenanti* f. *multicineta* f. nov. A—fixed animal, dorsal view, Feulgen-light green, 480 \times ; B—complex nucleus with 2 micronuclei in center, Feulgen-light green, 1725 \times ; C—fragmented complex nucleus (nuclear group), Feulgen-light green, 1725 \times .

macronuclei, the number of which is 6—8 (Fig. 6 E). The macronuclei may contain, besides the nucleoli, also large proteinaceous crystalloids (Fig. 6 F). The length of the complex nucleus (or of the nuclear group) is about 15 μ .

Geographical distribution: English Channel and Mediterranean (Dragesco 1960), White Sea (Raikov 1962), Black Sea (Kovaleva 1966), Caspian Sea (Agamaliev 1966 a, 1967), Barentz Sea (Kovaleva 1967), Japan Sea (Raikov 1963, and the present paper). A comparison of the available slides showed the White Sea, Black Sea, and Caspian Sea forms to be fully identical with *Tr. prenanti* f. *oligocineta* from the Japan Sea.

Tracheloraphis prenanti Dragesco, f. *multicineta* forma nova (Fig. 7)

Living ciliates of this form closely resemble *Tr. prenanti* f. *oligocineta*, being only slightly larger (800—1600 μ). But they have 20—26, usually 24 kine- ties. The glabrous stripe is wide, the pellicle transversely plicated (Fig. 7 A).

The complex nucleus of *Tr. prenanti* f. *multicineta* is much larger than that of the preceding form — about 25 μ long. It contains many nucleoli and two micronuclei (Fig. 7 B). The micronuclei are of the same size as in the preceding form (about 2 μ). The complex nucleus may fragment into a compact group of approximately 16 to 20 macronuclei (Fig. 7 C).

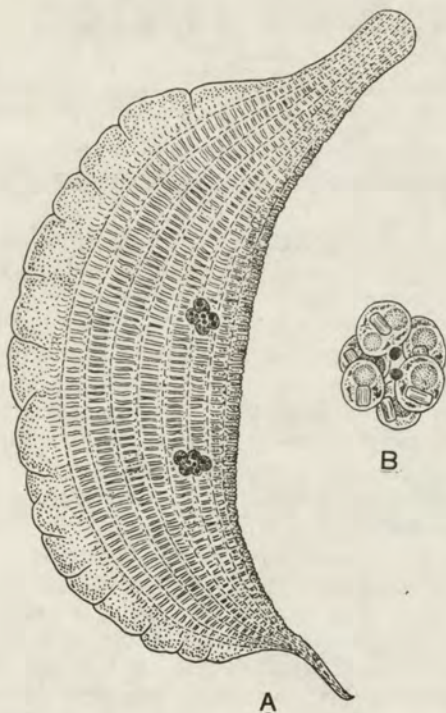


Fig. 8. *Tracheloraphis similis* sp. nov. A — fixed animal, right view, gallocyanin, 560 \times ; B — one of the nuclear groups (6 macronuclei with crystalloids, 2 micronuclei), Feulgen-light green, 1725 \times .

Geographical distribution: English Channel (Dragesco 1960, 1963 a) Black Sea (V. G. Kovaleva, unpublished), Japan Sea (Raikov 1963, and the present paper).

Tracheloraphis similis sp. nov. (Fig. 8)

Living specimens of *Tr. similis* are indistinguishable from *Tr. prenanti* f. *oligocineta* (body form and color, structure of "head" and "tail", etc.). Body length upon extension about 600–800 μ . Number of kineties — 16; glabrous stripe as wide as 6 kineties. Pellicle between the kineties transversely plicated (Fig. 8 A).

Nuclear apparatus consisting of two nuclear groups localized at a distance from each other (Fig. 8 A). No fusion of macronuclei into complex nuclei observed. Each nuclear group is approximately 10 μ long and consist of usually six macronuclei and two small (1 μ) micronuclei. The macronuclei contain 1–3 nucleoli and sometimes intranuclear crystalloids (Fig. 8 B).

Biotope: fine, slightly muddy sand. This species is known from the Japan Sea only (Raikov 1963, and the present paper).

The following key may help to determine *Tracheloraphis* species belonging to the "prenanti" group:

- A (B) Two nuclear groups, 16 kineties *Tr. similis*.
- B (A) One nuclear group or one complex nucleus C.
- C (D) Four or more micronuclei, 13–17 kineties *Tr. sarmaticus*.
- D (C) Two micronuclei (*Tr. prenanti*) E.
- E (F) 14–17 kineties *Tr. prenanti* f. *oligocineta*.
- F (E) 20–24 kineties *Tr. prenanti* f. *multicineta*.

Tracheloraphis flexuosus sp. nov. (Fig. 9)

Large (~1500 μ) vermiform ciliate with flexible body, sinuous during creeping (Fig. 9 A). Living specimens yellowish; cytoplasm transparent, strongly vacuolized. "Neck" and "head" not prominent; mouth region usually accumulating mineral granules. Posterior end pointed but forming no "tail" (Fig. 9 A).

Ciliature consisting of approximately 36 longitudinal kineties. Dorsal glabrous stripe as wide as approximately 6 kineties (Fig. 9 B).

Nuclear apparatus represented by 20–30 oval macronuclei and 10–15 micronuclei usually forming groups of 2 macronuclei and 1 micronucleus in each (Fig. 9 C, D). The nuclear groups are localized in a longitudinal row (Fig. 9 A–C). The macronuclei, 5–7 μ long, contain many small nucleoli; the micronuclei are comparatively large — about 3 μ in diameter (Fig. 9 D).

Biotope: fine, slightly muddy sand of the Japan Sea.

Among the multinucleate species of *Tracheloraphis*, three species resemble *Tr. flexuosus*: *Tr. fasciolatus* (Sauerbrey), *Tr. margaritatus* (Kahl), and especially *Tr. dogieli* (Raikov). They all have vermiform bodies, poorly expressed "necks" and "heads", pointed but not tail-like posterior body ends; their macronuclei never fuse into numerous complex nuclei as it occurs, e. g., in *Tr. kahli* (Raikov 1962) or *Tr. angustivittatus* (Borror 1963). But, according to Dragesco 1960, *Tr. fasciolatus* has a dark-brown color and more kineties (44–58) than *Tr. flexuosus*. *Tr. margaritatus* has, on the contrary, less kineties, than the new species — namely, 20–30 (Raikov 1957, 1962,

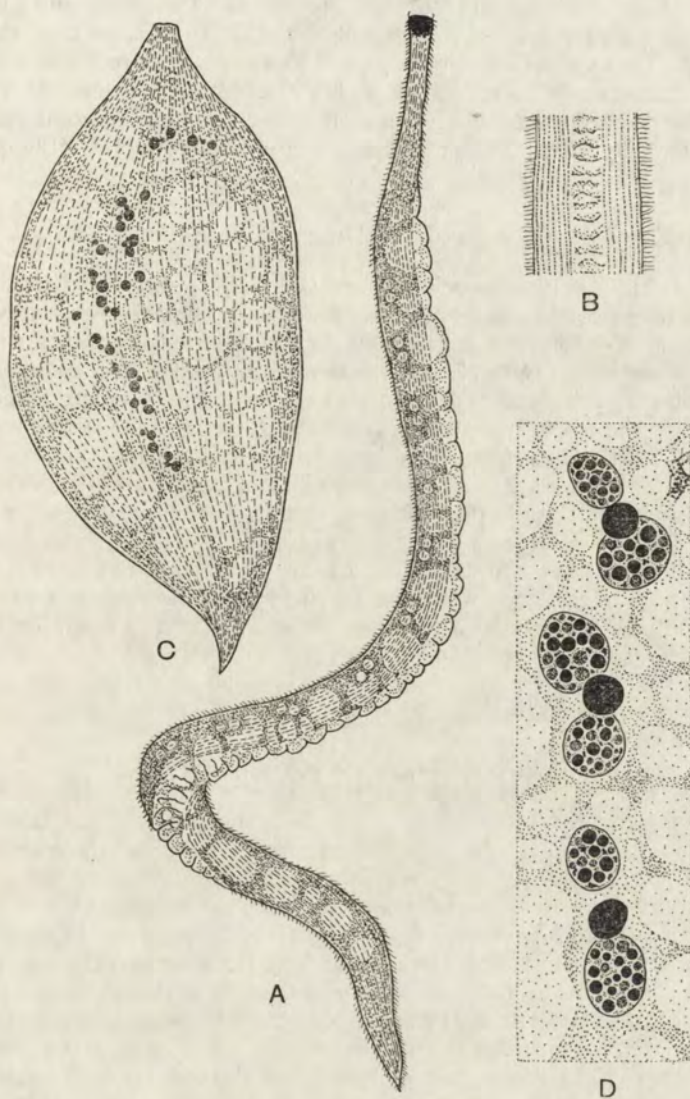


Fig. 9. *Tracheloraphis flexuosus* sp. nov. A — living animal; B — dorsal surface with glabrous stripe, in vivo; C — fixed animal, hemalum, 260 \times ; D — macronuclei and micronuclei, hemalum, 1610 \times .

Dragesco 1963 a, Dragesco et Raikov 1966). Besides that, in *Tr. fasciolatus* and *Tr. margaritatus* the nuclei form no groups of 2 macronuclei and 1 micronucleus each, and the macronuclei contain 1—3 large nucleoli (not many small ones, as in *Tr. flexuosus*).

The macronuclei of *Tr. flexuosus* resemble only the macronuclei of *Tr. dogieli*: both have many nucleoli. The number of kineties varies in *Tr. dogieli* between 36 and 60 (Raikov 1957, 1962) or between 32 and 46 (Dragesco

1963 a), i. e. it may equal that of *Tr. flexuosus*. The glabrous stripes are approximately equally wide in both species. But there are also differences between them: *Tr. dogieli* is larger (up to 2000 μ), has a more flattened, ribbon-like body, is always dark-brown (Raikov 1962). The nuclei of *Tr. dogieli* form no groups of 2 macronuclei and 1 micronucleus; in comparison with *Tr. flexuosus*, *Tr. dogieli* has much larger macronuclei (12—25 μ) and micronuclei (5—7 μ).

Tracheloraphis caudatus Dragesco et Raikov, 1966

The individuals of this species, found in Posjet, slightly differ from the Mediterranean type specimens of *Tr. caudatus*. They have somewhat less kineties, namely 30—38, most frequently 32 kineties (Mediterranean specimens have 38—44 kineties). Living *Tr. caudatus* from Posjet are colorless (Mediterranean animals are brownish); thus they resemble a related species, *Tr. discolor*, which occurs in the White and the Barentz seas (Raikov 1962, Kovaleva 1967). However, it is impossible to identify the Posjet forms with *Tr. discolor* due to the smaller number of their kineties (*Tr. discolor* have 44—52 kineties), the greater width of their glabrous stripe (in *Tr. discolor*, it is as wide as 2 kineties only), and the presence of a longitudinal slit at the edge of the mouth (this slit exists in *Tr. caudatus* but not in *Tr. discolor*). The number of nuclear groups varies in the Posjet specimens from 5 to 27, each group including 4 macro- and 2 micronuclei, exactly as in Mediterranean individuals (Dragesco et Raikov 1966).

Tr. caudatus has been found only in coarse sand of the Novgorodskaja bay; it never occurred at the Churkhado spit.

Trachelonema sulcata Kovaleva 1966

This species formed mass populations in Posjet, namely in fine sands of the Churkhado spit. The Posjet specimens embarrassed us, since they proved intermediate between the type (Black Sea) form of *Tn. sulcata* (Kovaleva 1966) and a related species, *Tn. poljanskyi*, described by Raikov 1963 from the Ussuri gulf of the Japan Sea. The Posjet specimens have 10 to 16 kineties and are in this respect nearer to *Tn. poljanskyi* (12 kineties) than to the Black Sea form of *Tn. sulcata* (18—24 kineties). But the Posjet specimens have a perfectly defined longitudinal groove on the glabrous (dorsal) body side, exactly as Black Sea individuals of *Tn. sulcata* have. Since the presence of this groove is the main distinctive character of *Tn. sulcata* as compared with *Tn. poljanskyi*⁵, we prefer to identify the Posjet form as *Tn. sulcata*.

Also the presence of the dorsal groove may turn out in future not constant; in this case, we should have to unite both Japan Sea forms and the Black Sea form into a single, highly variable species, the name of which would be *Trachelonema poljanskyi* Raikov, 1963 (the name *Tn. sulcata* Kovaleva 1966 falling as a junior synonym). But as no such data are hitherto available, we continue to consider *Tn. poljanskyi* and *Tn. sulcata* as separate species.

⁵ The presence of a longitudinal mouth slit in *Tn. sulcata* seemed to be another character distinguishing this species from *Tn. poljanskyi* (where no slit was recorded). But re-examination of stained preparations of *Tn. poljanskyi* from the Ussuri gulf showed that this species also has the mouth slit, like both the Black Sea and the Posjet forms of *Tn. sulcata*.

The material from Posjet enabled us to supplement the published observations on protrichocyst morphology in *Tn. sulcata*. This species has two kinds of protrichocysts, large ones and small ones; both are of brown color (Fig. 10). The large protrichocysts are arranged in single rows between the kineties and scattered without apparent order on the glabrous dorsal body side, except the longitudinal groove (exactly this makes the groove well visible, as a light stripe, in living animals). The small protrichocysts occupy the edges of the pellicular ridges separating the kineties, and are scattered throughout the dorsal body side including the groove (Fig. 10). Only the large protrichocysts were included into the original description of *Tn. sulcata* (Kovalëva 1966).

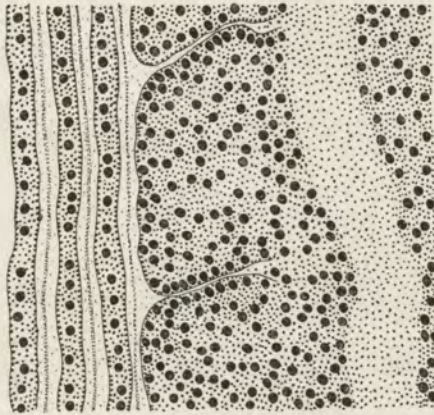


Fig. 10. Two types of protrichocysts (large and small) in *Trachelonema sulcata*: left, between kineties; right, on the glabrous dorsal surface; no large protrichocysts in the dorsal groove. Natural (brown) color of protrichocysts; cytoplasm stained with light green, 1450 \times .

Kentrophoros flavum sp. nov. (Fig. 11)

Body flat, ribbon-like, incontractile, with a median cytoplasmic thickening running along the dorsal body surface (Fig. 11 A, B, D). Living animals yellow. Anterior end forming a poorly expressed rostrum. Posterior end rounded. Trichocysts absent. Body length 300—600 μ .

Ciliature present only on the ventral body surface (as in all *Kentrophoros* species), consisting of 12 longitudinal rows. Dorsal surface completely covered with yellowish elongate symbiotic sulphur bacteria, about 4 μ long (Fig. 11 C). The bacteria attach to the pellicle with one of their ends (Fig. 11 A, D). The ventral surface of living ciliates is usually concave, the dorsal, convex, so that the bacteria protrude not only upward but also sideward (Fig. 11 D). Mouth absent.

Nuclear apparatus consisting of 9—28 macronuclei arranged in a single row along the body (in the median cytoplasmic thickening). The nuclei often (but not always) form groups of 2 macronuclei and 1 micronucleus (Fig. 11 E). The macronuclei, only 2 μ in diameter, contain a single nucleolus and a single Feulgen-positive chromocenter. The micronuclei are only 1—1.2 μ in diameter (Fig. 11 F).

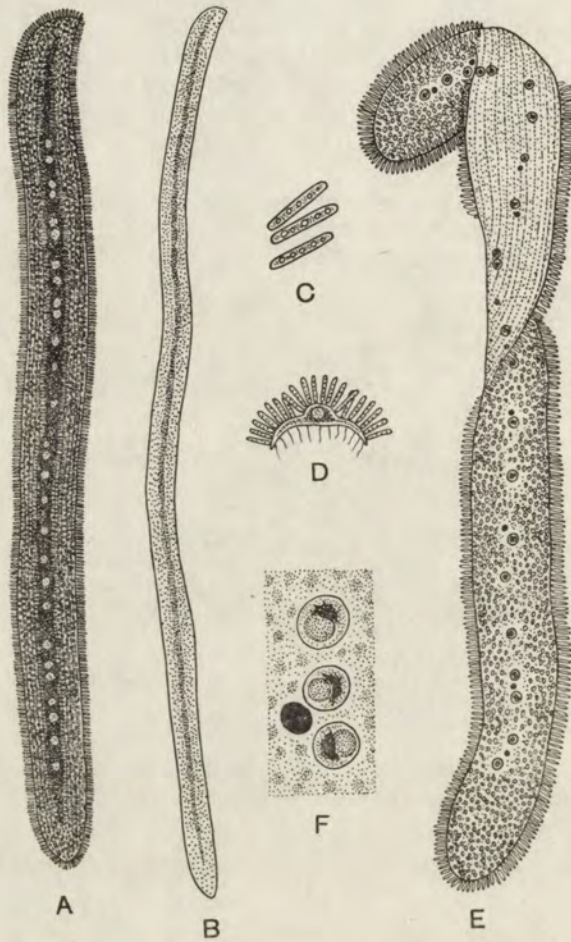


Fig. 11. *Kentrophoros flavum* sp. nov. A — living animal (body length 350 μ); B — a larger living specimen at a lower magnification (length 600 μ); C — isolated living bacteria; D — diagrammatic transverse section of the body; E — fixed animal, Feulgen-light green, 650 \times ; F — three macronuclei and a micronucleus, Feulgen-light green, 3200 \times .

Biotope: fine sand of the Churkhado spit.

According to the body form, number of kineties and nuclear morphology, this species resembles *Kentrophoros gracile* Raikov, 1963. But *K. flavum* differs from *K. gracile* by its larger size (300—600 μ versus 300—350 μ), yellow color, and presence of the longitudinal cytoplasmic thickening (the latter is well seen in vivo but worse in fixed animals). The bacteria cover in *K. flavum* the whole body including the rostrum (in *K. gracile* the rostrum is free of bacteria). The bacteria themselves are shorter (4 μ) and thicker in *K. flavum* than in *K. gracile* (6 μ). The number of nuclei in *K. flavum* (9—28 macronuclei, 3—14 micronuclei) is greater than in *K. gracile*, which has 7—10 macronuclei,

4–6 micronuclei. Finally, the nuclei themselves are smaller in *K. flavum* (the diameter of macronuclei is in *K. flavum* 2μ , in *K. gracile* — $3\text{--}4\mu$; the diameter of micronuclei, 1μ and 2μ respectively).

Diophrys magnus sp. nov. (Fig. 12 A, B)

This new species is closely related to *D. scutum* (for detailed descriptions of the latter, using silver impregnation methods, see: Dragesco 1963 b, Fauré-Fremiet 1964, Borrer 1965 a, Agamaliev 1968). We also had material of both species, that from Posjet was impregnated after Chatton and Lwoff.

Body elongate, posteriorly narrowed (Fig. 12 A). Body length $160\text{--}200\mu$. Peristome occupying $3/5$ of the body length (Fig. 12 A, B). Adoral zone consisting of $56\text{--}60$ membranelles (as in *D. scutum*, Fig. 12 C). At the right body margin, the adoral zone descends almost to the body middle. There are 5 frontal cirri arranged in a single row, 2 ventral cirri, 5 transversal cirri, 2 left marginal and 3 powerful right marginal cirri (Fig. 12 A, B). Thus, the number of cirri equals that in *D. scutum* (cf. Figs. 12 B and 12 C). Also the number of dorso-lateral rows of bristles is the same in both species, namely six.

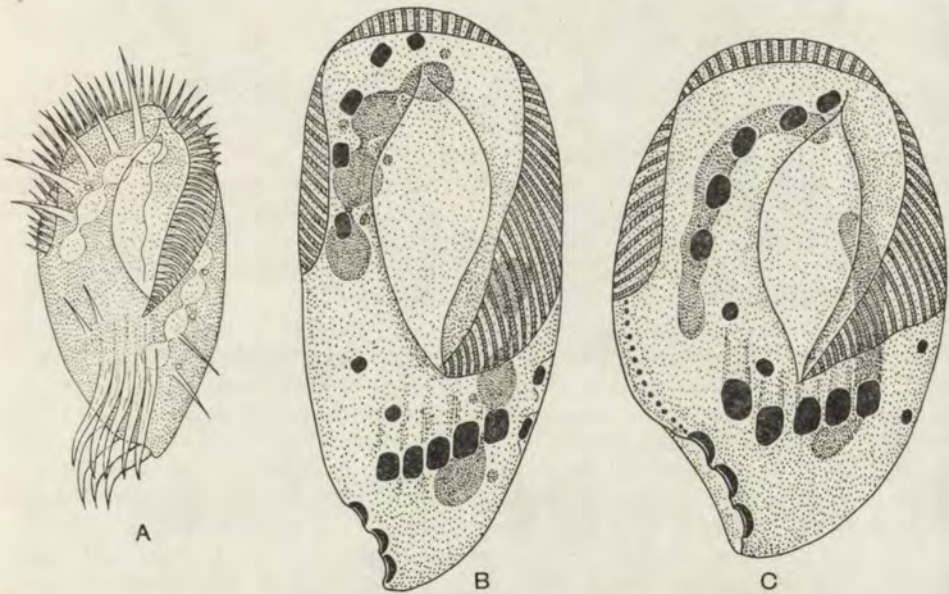


Fig. 12. A, B — *Diophrys magnus* sp. nov., ventral view (A — living animal, B — silver impregnation); C — *Diophrys scutum* Dujardin, ventral view, silver impregnation.

The macronucleus consists of two moniliform halves with oval nodes; the anterior right half has four nodes, the posterior left, three or four. There are several micronuclei (Fig. 12 A, B).

Biotope: coarse sand (Novgorodskaja bay of the Posjet gulf).

Despite the obvious similarity with *D. scutum*, we decided to separate *D. magnus* into a new species due to its following characters: more elongate body; somewhat larger size (for *D. scutum*, figures between 80 μ and 200 μ were recorded, but *D. scutum* from Posjet did not exceed 120 μ); moniliform macronuclei (*D. scutum* has two elongate, not moniliform macronuclei). Moniliform macronuclei were never recorded until now in the genus *Diophrys* (see: Kahl 1930—1935, 1933; Dragesco 1963b, Fauré-Fremiet 1964, Borrer 1963, 1965a, 1965b, Agamaliev 1967, 1968).

Specific composition of the psammobiotic ciliate fauna of the Japan Sea

Given below is the united list of ciliates found in 1962 in the Ussuri gulf (Raikov 1963) and/or in 1967 in the Posjet gulf. The occurrence of each species in the former and the latter gulfs is indicated by plus signs in the corresponding columns. In all, 71 ciliate forms are known from the Ussuri gulf, and 53, from the Posjet gulf; 34 forms occur in both gulfs. The total number of species and varieties of psammobiotic ciliates of the Japan Sea now reaches 90 (Table 1).

Conclusion

Among the species here indicated for the Japan Sea for the first time, many are widely distributed in the Atlantic basin seas. For example, *Lacrymaria coronata* occurs, besides the Japan Sea, in the mesopsammon of the Bay of Kiel (Bock 1952), of the English Channel (Dragesco 1960, 1966), of West Africa (Dragesco 1965), of the Mediterranean (Dragesco 1966), Black (Petran 1967) and Caspian (Agamaliev 1967) seas. *Tracheloraphis remanei* is known from the English Channel (Dragesco 1960), White Sea (V. G. Kovaleva, unpublished), and Caspian Sea (Agamaliev 1967). *Tracheloraphis swedmarki* is known from the English Channel (Dragesco 1960) and the Black Sea (Kovaleva 1966). *Tracheloraphis caudatus* occurs, besides the Japan Sea, in the Mediterranean (Dragesco et Raikov 1966), and *Trachelonema sulcata* — in the Black Sea (Kovaleva 1966). *Loxophyllum undulatum* is known from the mesopsammon of the Bay of Kiel (Sauerbrey 1928, Kahl 1933, Bock 1952), of the English Channel (Dragesco 1960), and of the Barentz Sea (Kovaleva 1967).

Of the five new species described by Raikov 1963 from the mesopsammon of the Ussuri gulf, three were later found in the Atlantic basin, namely, in the Black Sea: *Helicoprорodon orientalis* and *Tracheloraphis crassus* — by Kovaleva 1966, and *Kentrophoros gracile* — by Petran 1967. *Helicoprорodon orientalis* was found also in the Barentz Sea (Kovaleva 1967). Only two remaining species, *Tracheloraphis dicaryon* and *Trachelonema poljanskyi*, may still turn out to be endemic forms of the Pacific. It is possible that the new species described in the present paper will be also found in European seas, and occurrence of *Tracheloraphis lacteus* sp. nov. in the Black Sea is already known (see p. 311).

Table 1
Psammobiotic ciliates of the Japan Sea

Species	Ussuri gulf	Posjet gulf
<i>Holotricha, Gymnostomatida</i>		
Fam. <i>Enchelyidae</i> Ehrbg.		
1. <i>Holophrya vorax</i> Dragesco	+	-
2. <i>Helicoprorodon gigas</i> (Kahl)	+	+
3. <i>H. minutus</i> Bock	+	-
4. <i>H. orientalis</i> Raikov	+	+
5. <i>Lacrymaria coronata</i> Clap. et Lachm.	-	+
6. <i>Chaenea psammophila</i> Dragesco	+	-
Fam. <i>Colepidae</i> Ehrbg.		
7. <i>Coleps pulcher</i> Spiegel	+	-
8. <i>C. tessellatus</i> Kahl	+	-
9. <i>Coleps</i> sp.	-	+
Fam. <i>Didiniidae</i> Poche.		
10. <i>Mesodinium pulex</i> f. <i>pupula</i> Kahl	+	+
Fam. <i>Trachelocercidae</i> Kent		
11. <i>Trachelocerca coluber</i> Kahl	+	-
12. <i>Tc. multinucleata</i> Dragesco	+	-
13. <i>Tc. entzi</i> Kahl	+	-
14. <i>Tc. tenuicollis</i> Quennerstedt	+	-
15. <i>Tracheloraphis prenanti</i> Dragesco, f. <i>oligocineta</i> f. nov.	+	+
16. <i>Tr. prenanti</i> Dragesco, f. <i>multicineta</i> f. nov.	+	+
17. <i>Tr. similis</i> sp. nov.	+	+
18. <i>Tr. incaudatus</i> (Kahl)	+	+
19. <i>Tr. incaudatus</i> f. <i>quadrимicronucleata</i> f. nov.	+	+
20. <i>Tr. dicaryon</i> Raikov	+	+
21. <i>Tr. remanei</i> Dragesco	-	+
22. <i>Tr. lacteus</i> sp. nov.	-	+
23. <i>Tr. swedmarki</i> Dragesco	-	+
24. <i>Tr. gracilis</i> Dragesco	-	+
25. <i>Tr. drachi</i> Dragesco	+	+
26. <i>Tr. drachi</i> f. <i>bimicronucleata</i> Raikov	-	+
27. <i>Tr. serratus</i> sp. nov.	-	+
28. <i>Tr. striatus</i> Raikov	+	-
29. <i>Tr. caudatus</i> Dragesco et Raikov	-	+
30. <i>Tr. dogieli</i> (Raikov)	+	-
31. <i>Tr. flexuosus</i> sp. nov.	-	+
32. <i>Tr. crassus</i> Raikov	+	-
33. <i>Trachelonema longicollis</i> Dragesco	+	+
34. <i>Tn. oligostriata</i> Raikov	+	+
35. <i>Tn. poljanskyi</i> Raikov	+	-
36. <i>Tn. sulcata</i> Kovaleva	-	+

continued

Species	Ussuri gulf	Posjet gulf
Fam. Amphileptidae Bütschli		
37. <i>Litonotus duplostriatus</i> Maupas	+	-
38. <i>Litonotus</i> sp.	-	+
39. <i>Loxophyllum setigerum</i> Quennerstedt	+	+
40. <i>L. multiplicatum</i> Kahl	+	-
41. <i>L. undulatum</i> Sauerbrey	-	+
Fam. Loxodidae Bütschli		
42. <i>Remanella rugosa</i> Kahl	+	+
43. <i>R. granulosa</i> Kahl	+	+
44. <i>R. margaritifera</i> Kahl	+	-
45. <i>Ciliofaurea arenicola</i> Dragesco	+	-
46. <i>Kentrophoros fasciolatum</i> Sauerbrey	+	+
47. <i>K. uninucleatum</i> Raikov	+	-
48. <i>K. gracile</i> Raikov	+	+
49. <i>K. flavum</i> sp. nov.	-	+
50. <i>K. tubiformis</i> Raikov et Kovaleva ⁶	+	+
Fam. Nassulidae Fromentel		
51. <i>Eucamptocerca longa</i> Da Cuhna	+	-
Fam. Chlamyodontidae Stein		
52. <i>Chlamydon</i> sp.	-	+
53. <i>Cryptopharynx setigerus</i> Kahl	+	-
Fam. Dysteriidae Clap. et Lachm.		
54. <i>Dysteria procera</i> Kahl	+	-
<i>Holotricha, Trichostomatida</i>		
Fam. Geleidae Kahl		
55. <i>Geleia fossata</i> Kahl	+	+
56. <i>G. decolor</i> Kahl	+	+
57. <i>G. nigriceps</i> Kahl	+	+
58. <i>G. orbis</i> Fauré-Fremiet	+	+
59. <i>G. murmanica</i> Raikov	+	-
60. <i>G. major</i> Dragesco	+	-
Fam. Coelosomididae Corliss		
61. <i>Paraspathidium fuscum</i> (Kahl)	+	+
<i>Holotricha, Hymenostomatida</i>		
Fam. Frontoniidae Kahl		
62. <i>Frontonia marina</i> Fabre-Domergue	+	+
63. <i>F. arenaria</i> Kahl	+	+
64. <i>Cardiostoma vermiforme</i> Kahl	+	+

⁶ Raikov 1963 called this form "*K. fistulosum* Fauré-Fremiet", but later it was separated into a new species (Kovaleva 1966).

continued

Species	Ussuri gulf	Posjet gulf
Fam. Pleuronematidae Kent		
65. <i>Histiobalantium marinum</i> var. <i>major</i> Kahl	+	-
<i>Spirotricha</i> , <i>Heterotrichida</i>		
Fam. Peritromidae Stein		
66. <i>Peritromus faurei</i> Kahl	+	+
Fam. Spirostomatidae Stein		
67. <i>Blepharisma dileptus</i> Kahl	+	-
68. <i>B. clarissimum</i> Anigstein	+	-
69. <i>B. clarissimum</i> f. <i>arenicola</i> Kahl	+	-
70. <i>Gruberia</i> sp.	-	+
Fam. Condyllostomatidae Kahl		
71. <i>Condyllostoma arenarium</i> Spiegel	+	+
72. <i>C. remanei</i> Spiegel	+	+
<i>Spirotricha</i> , <i>Oligotrichida</i>		
Fam. Halteriidae Clap. et Lachm.		
73. <i>Strombidium arenicola</i> Dragesco	+	-
74. <i>S. cinctum</i> Kahl	+	-
75. <i>S. sauerbreyae</i> Kahl	+	-
<i>Spirotricha</i> , <i>Hypotrichida</i>		
Fam. Oxytrichidae Ehrbg.		
76. <i>Holosticha</i> sp.	+	-
77. <i>Keronopsis rubrum</i> (Ehrbg.)	+	+
78. <i>Trachelostyla caudata</i> Kahl	+	+
79. <i>Epiclintes ambiguus</i> (O.F.M.)	+	-
80. <i>Amphisiella milnei</i> Kahl	+	-
81. <i>Oxytricha discifera</i> Kahl	+	+
82. <i>Urostyla</i> sp.	-	+
Fam. Euplotidae Ehrbg.		
83. <i>Euplotes cristatus</i> Kahl	+	-
84. <i>Diophrys scutum</i> Dujardin	+	+
85. <i>D. irmgard</i> Mansfeld	+	-
86. <i>D. magnus</i> sp. nov.	-	+
87. <i>Discocephalus rotatorius</i> Ehrbg.	+	-
88. <i>Uronychia transfuga</i> O.F.M.	+	+
Fam. Aspidiscidae Ehrbg.		
89. <i>Aspidisca major</i> Madsen	+	-
90. <i>Aspidisca</i> sp.	-	+

Thus, a supplementary study of the psammobiotic ciliates of the Japan Sea confirmed our previous viewpoint (Raikov 1963), according to which no significant differences exist between the ciliate faunas of the mesopsammon of the Japan Sea, on one hand, and of the Atlantic seas, on the other hand.

Summary

The following new species of ciliates are described from the mesopsammon of the Posjet gulf (Japan Sea): *Tracheloraphis lacteus* sp. nov., *Tr. serratus* sp. nov., *Tr. flexuosus* sp. nov., *Kentrophoros flavum* sp. nov., *Diophrys magnus* sp. nov.

A revision of the species *Tracheloraphis prenanti* Dragesco is made; this species is divided in two forms, *Tr. prenanti* f. *oligocineta* f. nov. and *Tr. prenanti* f. *multicineta* f. nov.; moreover, a new species *Tr. similis* sp. nov., is separated from *Tr. prenanti*. A new form, *Tr. incaudatus* (Kahl) f. *quadrимicronucleata*, f. nov., is described. Additional data on morphology of *Tracheloraphis swedmarki* Dragesco, *Tr. remanei* Dragesco, *Tr. caudatus* Dragesco et Raikov, and *Trachelonema sulcata* Kovaleva are given. The species list of ciliates of the mesopsammon of the Japan Sea is brought to 90 forms.

No significant endemism of the psammobiotic ciliate fauna of the Japan Sea is found.

РЕЗЮМЕ

Из мезопсаммона залива Посьет (Японское море) описаны следующие новые виды инфузорий: *Tracheloraphis lacteus* sp. nov., *Tr. serratus* sp. nov., *Tr. flexuosus* sp. nov., *Kentrophoros flavum* sp. nov., *Diophrys magnus* sp. nov. Произведена ревизия вида *Tracheloraphis prenanti* Dragesco, который разделен на две формы: *Tr. prenanti* f. *oligocineta* f. nov. и *Tr. prenanti* f. *multicineta* f. nov.; кроме того, из него выделен новый вид — *Tr. similis* sp. nov. Описана форма *Tr. incaudatus* (Kahl) f. *quadrимicronucleata* f. nov. Даны дополнительные сведения по морфологии *Tracheloraphis swedmarki* Dragesco, *Tr. remanei* Dragesco, *Tr. caudatus* Dragesco et Raikov и *Trachelonema sulcata* Kovaleva. Список видов инфузорий мезопсаммона Японского моря доведен до 90 форм. Заметной эндемичности фауны псаммофильных инфузорий Японского моря не обнаружено.

REFERENCES

- Agamaliyev F. G. 1966 a: Predvaritelnye dannye po intersticialnoj faune infuzorij Zapadnogo poberežja Kaspijskogo morja. *Izv. Akad. Nauk Azerb. SSR. Ser. biol. med. Nauk.*, 2, 61—73.
- Agamaliyev F. G. 1966 b: Novye vidy infuzorij mezopsammona Zapadnogo poberežja Kaspijskogo morja. *Acta Protozool.* 4, 169—183.
- Agamaliyev F. G. 1967: Faune des Ciliés mésopsammiques de la côte ouest de la Mer Caspienne. *Cah. Biol. mar.*, 8, 359—402.
- Agamaliyev F. G. 1968: Materialy do morfologii nekotorych psammofilnyh infuzorij Kaspijskogo morja. *Acta Protozool.*, 6, 225—244.
- Bock K. J. 1952: Zur Ökologie der Ciliaten des marinen Sandgrundes der Kieler Bucht I. *Kieler Meeresforsch.*, 9, 77—89.

- Borror A. C. 1963: Morphology and ecology of the benthic ciliated protozoa of Alligator Harbor, Florida. Arch. Protistenk., 106, 465—534.
- Borror A. C. 1965 a: Morphological comparison of *Diophrys scutum* (Dujardin, 1841) and *Diophrys peloetes* n. sp. (*Hypotrichida*, *Ciliophora*). J. Protozool., 12, 60—66.
- Borror A. C. 1965 b: New and little-known tidal marsh ciliates. Trans. Amer. microsc. Soc., 84, 550—565.
- Dragesco J. 1960: Les Ciliés mésopsammiques littoraux (systématique, morphologie, écologie). Trav. Sta. biol. Roscoff, n. s., 12, 1—356.
- Dragesco J. 1963 a: Compléments à la connaissance des ciliés mésopsammiques de Roscoff. I. Holotriches. Cah. Biol. mar. 4, 91—119.
- Dragesco J. 1963 b: Compléments à la connaissance des Ciliés mésopsammiques de Roscoff (II. Hétérotriches, III. Hypotriches). Cah. Biol. mar., 4, 251—258.
- Dragesco J. 1965: Ciliés Mésopsammiques d'Afrique Noire. Cah. Biol. mar., 6, 357—399.
- Dragesco J. 1966: Observation sur quelques ciliés libres. Arch. Protistenk. 109, 155—206.
- Dragesco J. et Raikov I. 1966: L'appareil nucléaire, la division et quelques stades de la conjugaison de *Tracheloraphis margaritatus* (Kahl) et *T. caudatus* sp. nov. (*Ciliata*, *Holotricha*). Arch. Protistenk., 109, 99—113.
- Fauré-Fremiet E. 1950: Ecologie des Ciliés psammophiles littoraux. Bull. biol. Fr. Belg., 84, 35—75.
- Fauré-Fremiet E. 1951: The marine sand dwelling Ciliates of Cape Cod. Biol. Bull., 100, 59—70.
- Fauré-Fremiet E. 1964: Les Ciliés hypotriches retrocursifs. Arch. Zool. exp. gén., 104, 65—74.
- Kahl A. 1930—1935: Wimpertiere oder Ciliata. Teile 1—4. Die Tierwelt Deutschlands, 18, 21, 25, 30. Jena.
- Kahl A. 1933: Ciliata libera et ectocommensalia. Tierwelt der Nord- und Ostsee, 23, Teil II, C. 3, 29—146, Leipzig.
- Kovaljeva V. G. 1966: Infuzorii mezopsammona pesčanyh buht Černogo morja. Zool. Zh., 45, 1600—1611.
- Kovaljeva V. G. 1967: Nove dannye po faune infuzorij mezopsammona Baren-cova morja. Acta Protozool., 5, 81—88.
- Petran A. 1967: Cercetări asurpa faunei de ciliate psamobionte la plajele din sudul litoralului românesc al Mării Negre. Ecologie Marină, Vol. II, Ed. Acad. R. S. Romania, Bucurestii; 169—191.
- Raikov I. B. 1957: Jadernyj apparat i ego reorganizacija v cikle delenija u infuzorij *Trachelocerca margaritata* (Kahl) i *T. dogieli* sp. nov. (*Holotricha*). Zool. Zh., 36, 344—359.
- Raikov I. B. 1962: Les ciliés mésopsammiques du littoral de la Mer Blanche (URSS), avec une description de quelques espèces nouvelles ou peu connues. Cah. Biol. mar., 3, 325—361.
- Raikov I. B. 1963: Infuzorii mezopsammona Ussurijskogo zaliva (Japonskoe more). Zool. Zh., 42, 1753—1767.
- Sauerbrey E. 1928: Beobachtungen über einige neue oder wenig bekannte marine Ciliaten. Arch. Protistenk., 62, 355—407.
- Uhlig G. 1964: Eine einfache Methode zur Extraktion der vagilen, mesopsammalen Mikrofauna. Helgol. wiss. Meeresunters., 11, 178—185.
- Uhlig G. 1965: Untersuchungen zur Extraktion der vagilen Mikrofauna aus marinen Sedimenten. Verh. Deutsch. Zool. Gesell., Jena, 151—157.

Vassil GOLEMANSKY

Matériaux sur la faune thecamoebienne (*Rhizopoda*, *Testacea*) de Cuba

Материали върху тестацейната фауна (*Rhizopoda*, *Testacea*) на Куба

La faune thecamoebienne de Cuba est restée entièrement ignorée jusqu'à maintenant. Nous n'avons aucun renseignement sur les rhizopodes thecamoebiens de ce pays si intéressant du point de vue géographique et climatique.

Le présent travail est un essai d'étude de la faune thecamoebienne de Cuba sur un matériel provenant de différents milieux écologiques du pays. Les échantillons étudiés m'ont été aimablement procurés par le Doc. D. Tachev, qui les a ramassés au cours de l'an 1967 — pendant son séjour à Cuba. Une partie des échantillons et surtout celle de mousses épiphytes a été récoltée par Mr. N. Mitov. Que le Doc. D. Tachev et Mr. Mitov veuillent trouver ici l'expression de ma sincère gratitude pour leur envoi précieux.

Le matériel qui a fait l'objet de la présente étude se composait de 16 échantillons récoltés dans différentes régions de Cuba. En adoptant la classification écologique de Thomas 1959 nous pouvons classifier les différents biotopes explorés (B) comme suit:

A. Milieu dulcaquicole

¹ Habana. Végétation aquatique récoltée d'un petit bassin d'eau. 12.VIII.1967. Leg. D. Tachev.

² Pinar del Río, loc. Dayaniguas. Végétation aquatique d'une rizière. 13.IX.1967. Leg. D. Tachev.

³ Pinar del Río, loc. Cortés. Les rivages d'une lagune d'eau douce. 15.IX.1967. Leg. D. Tachev.

B. Milieu subaérien

⁴ Oriente, Santiago de Cuba, loc. la Gran Piedra. Mousses humides sur roches. 12.IV.1967. Leg. D. Tachev.

⁵ Pinar del Río, loc. Viñales, grotte Jose Miguel. Mousses humides sur les roches près de l'entrée de la grotte. 21.IX.1967. Leg. D. Tachev.

⁶ Habana, Estacion Experimental Agronomica, loc. Santiago de las Vegas. Mousses humides sur une clôture de pierres. 13.X.1967. Leg. D. Tachev.

⁷ Habana, Estacion Experimental Agronomica, loc. Santiago de las Vegas. Mousses terricoles. 13.X.1967. Leg. D. Tachev.

C. Milieu aérien

⁸ Pinar del Río, loc. Herradura. Mousses épiphytes de *Citrus sinensis* (L.) Osbeck. 14.IX.1967. Leg. D. Tachev.

⁹ Oriente, Santiago de Cuba, loc. la Gran Piedra. Mousses épiphytes de *Buxus sempervirens* L. 1.X.1967. Leg. N. Mitov.

¹⁰ Oriente, Santiago de Cuba, loc. Gran Piedra. Mousses épiphytes de *Citrus sinensis* (L.) Osbeck. 1.X.1967. Leg. N. Mitov.

¹¹ Oriente, Santiago de Cuba, loc. la Gran Piedra. Mousses épiphytes d'une fougère arborescente. 1.X.1967. Leg. N. Mitov.

¹² Oriente, Baracoa, loc. Sapote de Maudingo. Mousses épiphytes d'un palmier. 7.X.1967. Leg. N. Mitov.

¹³ Oriente, Baracoa, loc. Sapote de Maudingo. Mousses épiphytes de *Cofea arabica* L. 7.X.1967. Leg. N. Mitov.

¹⁴ Oriente, loc. Vertientes. Mousses épiphytes de *Cofea arabica* L. 8.X.1967. Leg. N. Mitov.

¹⁵ Oriente, Guantanamo, loc. Bayate. Mousses épiphytes de *Cofea arabica* L. 10.X.1967. Leg. N. Mitov.

¹⁶ Oriente, loc. Mayary Arriba. Mousses épiphytes de *Cofea arabica* L. 12.X.1967. Leg. N. Mitov.

L'exploration des prélèvements cités ci-dessus a fourni, au total, 44 espèces et variétés de rhizopodes thécamoebiens, appartenant à 18 différents genres. La liste complète des thécamoebiens trouvés et leur répartition dans les différents biotopes examinés sont présentées, d'une façon générale au Table 1.

Notes systématiques et écologiques

En résultat des recherches effectuées on a également trouvé quelques espèces de thécamoebiens qui représentent un intérêt plus particulier de point de vue morphologique, systématique et écologique. Parmi elles de plus grand intérêt est l'observation d'une nouvelle espèce de thécamoebienne, dont les caractères taxonomiques et l'écologie nous permettent de la distinguer dans un genre nouveau.

Microquadrula gen. n.

Typus generis: *Microquadrula musciphila* sp. n.

Thèque ovoïde, hyaline et transparente, rétrécie dans sa partie antérieure. Pseudostome rond, tronqué obliquement. Section de la thèque circulaire. Revêtement formé de plaquettes carrées ou rectangulaires en apparence identique à celle du genre *Quadrullella* Cockerell et formé de matière silicieuse, inattaquables par l'acide chlorhydrique. Le genre *Microquadrula* gen. n. diffère du genre *Paraquadrula* Defl. par sa forme générale, sa section transversale circulaire, son pseudostome rond et placé obliquement et la nature silicieuse de ses plaquettes.

Microquadrula musciphila sp. n. (Fig. 1, A—C)

Thèque ovoïde, hyaline et transparente, rétrécie dans sa partie antérieure. Pseudostome rond, tronqué obliquement. En vue ventrale la thèque parfois a l'aspect d'un Corythion. Section de la thèque circulaire. Revêtement formé de plaquettes carrées ou rectangulaires, soudées sur une membrane chitineuse et incolore. Les plaquettes, juxtaposées ou empiétant les unes sur les autres, sont disposées en séries verticales ou plus ou moins obliques. Plaquettes plus petites autour de pseudostome. Les plaquettes sont disposées sur 4—6 rangées longitudinales et sur 3—5 rangées transversales. Elles sont constituées de matière silicieuse, comme le cas du genre *Quadrullella* Cockerell. Placées dans l'acide chlorhydrique conc. les plaquettes de *M. musciphila* sp. n. ne montrent aucun changement visible.

Dimensions: longueur: 22—25 μ ; diamètre: 16—19 μ ; pseudostome: 5—6,5 μ .

Chez les individus enkystés le pseudostome est obturé d'un bouchon (épiphragme) de débris, qui a une couleur gris-verdâtre. Noyau unique, entouré d'un cytoplasme très hyalin. Pseudopodes non observés.

Ne connaissant pas le type des pseudopodes de l'animal nous plaçons pour le moment *Microquadrula musciphila* sp. n. dans la famille des *Nebelidae*. Dans ce cas nous nous basons seulement sur la ressemblance de revêtement de notre nouvelle espèce avec le revêtement du genre *Quadrullella* Cockerell, appartenant à la famille des *Nebelidae*.

M. musciphila sp. n. a été trouvée en quantité dans un échantillon de mousses subaériennes humides, récoltées sur les roches près de l'entrée de la grotte Jose Miguel en Pinar del Rio (B.: 5).

Une préparation "type" est déposée dans la collection de l'auteur à l'Institut Zoologique et Musée, Sofia.

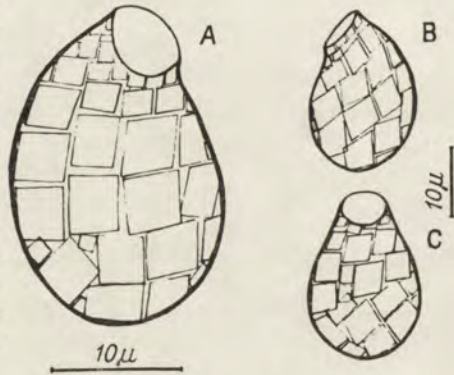


Fig. 1. *Microquadrula musciphila* gen. n., sp. n., A — vue de 3/4, B — vue latérale, C — vue ventrale.

Hyalosphaenia insecta Harnisch, 1938

Cette espèce découverte par Harnisch 1938 dans les mousses et sphaignes de Laponie a été retrouvée plus tard en Belgique et dans les sols calcaires de France. D'après Grospietsch 1965 *H. insecta* varie de 68—84 μ . de longueur, avec une largeur de 29 à 42 μ . Dans mes matériaux de mousses subaériennes humides (B.: 5) j'ai trouvé aussi cette espèce, mais d'une taille ne dépassant jamais 56 μ . de longueur. De plus, les théques de nos exemplaires étaient très faiblement comprimées: largeur (m) — 24 μ . et épaisseur (m) — 20 μ . Les autres caractères taxonomiques correspondaient à la description de l'espèce. Ne disposant pas d'autres observations sur les formes trouvées au cours de la présente étude il me semble difficile de croire que c'est un taxon nouveau, je pense qu'il s'agit plutôt d'une espèce assez polymorphe et variable d'après l'endroit de l'habitation.

Diffugia corona var. *ecornis* G.-Lièvre et Thomas, 1958

Nous nous arrêtons sur cette variété puisqu'il s'agit d'une forme assez rare et connue jusqu'à présent seulement de France et du Gabon (Afrique Occidentale) (G.-Lièvre et Thomas 1958). D'ailleurs des formes sans cornes de *D. corona* on été observées également par Jennings 1916 en Amérique, mais ce dernier auteur ne les considérait pas comme une variété fixée de l'espèce. D'après lui elles constituent une ligne héréditaire constante, provenant de la forme typique. Dans notre échantillon d'algues et de végétation aquatique d'un petit bassin d'eau (B.: 1) nous avons aussi observé une population peu dense, mais formée exclusivement d'individus sans cornes. L'espèce type n'était

Table 1
Liste et répartition des thécamoebiens trouvés

Biotopes Espèces trouvées	Milieu dulca- quicole			Milieu subaérien				Milieu aérien								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
<i>Lobosa</i>																
Fam. Arcellidae																
<i>Arcella arenaria</i> Greeff	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-
Fam. Centropyxiidae																
<i>Centropyxis aerophila</i> Defl.	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-
<i>C. aculeata</i> (Ehrenb.) Stein	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>C. elongata</i> (Pen.) Thomas	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+	-
<i>C. minuta</i> Defl.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-
<i>C. sylvatica</i> (Defl.) Thomas	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-
<i>Cyclopyxis eurystoma</i> Defl.	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>C. kahli</i> Defl.	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-
<i>Bullinularia indica</i> Pen.	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-
<i>Trigonopyxis microstoma</i> Hoog. et de Groot	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-
Fam. Plagiopyxidae																
<i>Plagiopyxis callida</i> Pen.	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-
<i>Pl. declivus</i> Thomas	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-
<i>P. labiata</i> Pen.	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Plagiopyxis</i> sp.	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Fam. Difflogiidae																
<i>Difflogia corona</i> var. <i>ecornis</i> G. -Lièvre et Thomas	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>D. lobostoma</i> Leidy	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>D. lucida</i> Pen.	-	-	-	+	+	-	-	-	+	-	+	-	+	+	+	+
<i>D. minuta</i> Rampi	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>D. oviformis</i> Cash	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>D. penardi</i> (Pen.) Hopkinson	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Fam. Nebelidae																
<i>Quadrullella symmetrica</i> var. <i>irregularis</i> Pen.	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Nebela collaris</i> (Ehrenb.) Leidy	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

continuation

Biotopes Espèces trouvées	Milieu dulca- quicole			Milieu subaérien				Milieu aérien								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
<i>Nebela caundata</i> Leidy	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>N. tubulata</i> Brown	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Hyalosphænia insecta</i> Harnisch	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Heleopera petricola</i> Leidy	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>H. petricola</i> var. <i>amethystea</i> Pen.	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>H. sylvatica</i> Pen.	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+	-	+	+
<i>Microquadrula muscipila</i> sp. n.	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Reticulolobosa</i>																
<i>Phryganella acropodia</i> (H. et L.) Hopkinson	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-
<i>Filosa</i>																
Fam. <i>Euglyphidae</i>																
<i>Assulina muscorum</i> Greeff	-	-	-	+	-	-	-	+	+	+	-	+	-	-	-	-
<i>Euglypha ciliata</i> (Ehrenberg)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-
<i>E. acanthophora</i> (Ehrenb.) Perty	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>E. compressa</i> Carter	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-
<i>E. loevis</i> Perty	-	-	-	+	-	-	-	-	+	+	+	+	-	+	+	+
<i>E. rotunda</i> Wailes	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+	-	-
<i>E. strigosa</i> (Ehrenb.) Leidy	-	-	-	+	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-
<i>Tracheleuglypha acolla</i> Bonnet et Thomas	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Corythion dubium</i> Taraneck	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-
<i>C. dubium</i> var. <i>aerophila</i> Decl.	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-
<i>Trinema complanatum</i> Pen.	-	-	-	+	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	+
<i>Tr. enchelis</i> (Ehrenb.) Leidy	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Tr. lineare</i> Pen.	+	-	-	+	+	+	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-
<i>Tr. penardi</i> Thomas et Chardez	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+

pas observée dans ce prélèvement. Le diamètre de nos exemplaires variait de 160 à 175 μ . et l'aspect morphologique correspondait complètement à la description et à la figure de G. - Lièvre et Thomas 1958. Espèce aquatique.

Conclusion

Au cours de la présente étude ont été explorés 16 prélèvements, provenant de 3 différents milieux écologiques de Cuba. En résultat de l'investigation de ces échantillons on été trouvées et identifiées 44 espèces et variétés de thécamoebiens, appartenant à 18 genres.

L'analyse de la liste des thécamoebiens observés nous montre que la plupart des espèces trouvées sont eurybiontes et cosmopolites, largement répandues dans d'autres pays explorés de ce point de vue. Spécialement dans les mousses c'est la "Faune banale" d'après Penard 1909 qui peuple en masse les différents milieux écologiques. Un intérêt plus particulier mérite, sans doute, la découverte de nouveau genre *Microquadrula* gen. n., avec la seule espèce observée *Microquadrula musciphila* sp. n. Comme pour le moment elle n'a été trouvée que dans un seul biotope (B.: 5) il est très souhaitable de préciser par la suite l'écologie et la distribution géographique de cette espèce, si intéressante du point de vue morphologique et systématique.

РЕЗИОМЕ

За целите на настоящата публикация са изследвани общо 16 проби, произхождащи от Република Куба и спадащи към три различни екологически среди според екологическата класификация на биотопите, предложена от Thomas 1959.

В резултат на направените изучвания са установени и идентифицирани общо 44 вида тестацеи, принадлежащи към 18 рода. Пълният списък на намерените видове, както и тяхното разпространение в изследваните биотопи са представени на Таблица I.

Анализа на списъка на намерените видове показва, че по-голямата част от тях са еврибионтни и космополитни форми, широко разпространени в почти всички изучени в протозоологично отношение страни. Особен интерес представлява намирането на новия вид за науката *Microquadrula musciphila* sp. n., който принадлежи и към самостоятелен нов род *Microquadrula* gen. n.

Накрая на работата са дадени и някои бележки върху два други вида тестацеи: *Hyalosphaenia insecta* Harnisch и *Diffflugia corona* var. *ecornis* G.-Lièvre et Thomas, които са познати до сега само от единични находища и представляват известен интерес в морфологично и систематично отношение.

BIBLIOGRAPHIE

- Gauthier-Lièvre L. et Thomas, R. 1958: Les genres *Diffflugia*, *Pentagonia*, *Magherbia* et *Hoogenraadia* (Rhizopodes testacés) en Afrique. Arch. Protistk., 103, 241—370.
- Grospietsch Th. 1965: Monographische Studie der Gattung *Hyalosphaenia* Stein. Hydrobiologia, 26, 211—241.
- Harnisch O. 1938: Weitere Daten zur Rhizopodenfauna Laplands. Ein Beitrag zur Ökologie sphagnophiler Rhizopoden. Zool. Anz., 124, 138—150.
- Jennings H. 1916: Heredity, variation and the results of selection in the uniparental reproduction of *Diffflugia corona*. Genetics, 1, 407—534.
- Penard E. 1909: Sur quelques Rhizopodes des Mousses. Arch. Protistk., 17, 258—296.
- Thomas R. 1959: Les thécamoebiens muscicoles et terricoles: notion d'écologie générale et comparative. P.-V. de Soc. Linn. de Bordeaux, 97, 1—27.

Laboratory of Biological Control, Institute of Plant Protection, Grunwaldzka 189.
Poznań 8, Poland

Jerzy J. LIPA

Plistophora geotrupina sp.n., a microsporidian parasite of dung beetles *Geotrupes* spp. (Coleoptera, Scarabaeidae)

Plistophora geotrupina sp. n. (Microsporidia), nowy pasożyt żuków gnojowników *Geotrupes* spp. (Coleoptera, Scarabaeidae)

Dung beetles of the genus *Geotrupes* (Coleoptera, Scarabaeidae) are very common insects in open field and especially in forest area. They are known as coprophagous feeding on excrements of animals, and they serve as vectors and secondary hosts for a number of species of *Nematoda*, *Cestoda* and *Acanthocephala* parasitic in wild and domestic animals.

While conducting extensive studies on protozoan infections of insects¹ we have frequently observed an undescribed microsporidian in some *Geotrupes* species. This paper is concerned with the taxonomy of the parasite and with its pathogenicity.

Material and methods

Larvae and adult beetles of *Geotrupes* spp. were collected in various localities in Poland, mainly in Białowieża (Białystok voivodeship), Gola (Wieruszów County of Łódź voivodeship), and Puszczykowo (Poznań County). The collected specimens were dissected and their tissues were examined microscopically. Smear preparations of the tissues were fixed in methyl alcohol and stained with 10% Giemsa's solution for 18 hours. The histopathological effect of the parasite was studied on microtome sections stained with 0.25% Giemsa's solution for 24 hours.

Results

During this study gregarine and microsporidian infections were observed among dung beetles. In this paper only results on microsporidian infections are included, while results of our studies on gregarine infections were published elsewhere (Lipa 1967).

¹ This study was supported partly by the research grant FG-Po-112 from the United States Department of Agriculture.

Plistophora geotrupina sp. n.

Host insects: *Geotrupes stercorarius* L., *G. stercorosus* Scriba, *G. vernalis* L.

Habitat: Fat body, intestine, Malpighian tubules.

Locality record: Białowieża 3.X.1962; 10.VII.1964, 15.VII.1967; Gola 20.VII.1962; Janówka 5.VI.1963; Laski 19.IX.1964; Puszczykowo 11.VII.1967.

Schizogony

Schizonts of *Plistophora geotrupina* sp. n. vary greatly in size. Small schizonts are 6–10 μ in diameter (Pl. I 1), while the largest ones are 25–40 μ . The majority of schizonts have 20–25 μ (Pl. I 2, 3).

All schizonts are multinucleate and of plasmodial appearance (Pl. I 1–3). In large schizonts even up to 50 nuclei are present. The nuclei are very small being 1–2 μ in diameter and are seen as round or irregular red spots against the blue cytoplasm.

Sporogony

The sporogony is very unusual in this species but it indicates that the parasite belongs to the genus *Plistophora* as many spores are produced from each sporont.

The differentiation of spores and their maturing in pansporoblasts is not simultaneous. As seen in Pl. II 6, 7, 8 sporoblasts become differentiated in a peripheric zone of pansporoblasts while the center is still of plasmodial character. In many cases the sporogony proceeds in such a way that three fourth of the pansporoblast turns into spores while the other parts of the cytoplasm are still unchanged (Pl. I 4, 5).

Spores

Spores are elipsoidal and when fixed in methyl alcohol and stained with Giemsa's solution they are 5.5–8 μ long and 3.9–5 μ wide. Frequency distribution of the size of spores in several classes are given in Table 1.

The polar filament is up to 200 μ long.

Table 1

Frequency distribution of the length of one sample of 50 spores of *Plistophora geotrupina* sp. n.

Sample	Dimensionable groups in microns					
	5.1–5.5	5.6–6.0	6.1–6.5	6.6–7.0	7.1–7.5	7.6–8.0
Fixed and stained spores	1	10	13	21	2	3

Taxonomic position

Inasmuch as several spores are produced from each sporont during sporogony this microsporidian belongs to the genus *Plistophora*. Although the differentiating of spores from a plasmodial body in this species is rather unique and for the first time recorded in the genus *Plistophora*, it fits the general characteristic of this genus.

There is no previous record of microsporidian infection of *Geotrupes* spp. and no other species described from *Coleoptera* can be identified with the studied member of *Plistophora* genus. For the reasons explained above, I assume that this microsporidian has not been described previously. Accordingly, I propose the name *Plistophora geotrupina* sp. n. for it after the generic name of its hosts.

The holotype slide, stained with Giemsa, from an adult collected in Gola on 20.VII.1962 is in the author's collection. The paratype slides are deposited in the collections of the Zoological Institute of the University of Warszawa, and at Dr Jaroslav Weiser's Department of Insect Pathology, Institute of Entomology CSAV, Prague, Czechoslovakia.

Histopathology

The main site of infection is the gut epithelium and the fat body which in many cases, are completely destroyed (Pl. II 8). In many insects the parasite developed in Malpighian tubules.

In Pl. IV. 12 and 13 a huge number of spores is seen in the lumen of the gut, although epithelial cells are not infected. This is evidently due to cannibalism very common among *Scarabaidae*.

Epizootiology

The infection takes place by ingesting the spores. This was proved by experiments and was indicated by histopathological studies.

In many populations the infection level is much higher among adult beetles than among larvae. Evidently this is due to the fact that many focal infections in larval tissues are difficult to be determined while in adults the

Table 2

Number of examined *Geotrupes* spp. and infected with *Plistophora geotrupina* sp. n.

Locality	Date	<i>Geotrupes</i> species	Number of insects	
			examined	infected
Białowieża	6.VII.1961	<i>G. spp.</i>	23	0
	3.X.1962	<i>G. stercorosus</i>	6	4
	10.VII.1964	<i>G. stercorosus</i>	15	3
	20.VII.1965	<i>G. stercorosus</i>	57	15
	15.VII.1967	<i>G. stercorarius</i>	22	1
		<i>G. stercorosus</i>	18	2
Gola	20.VII.1962	<i>G. stercorosus</i>	19	4
		<i>G. vernalis</i>	15	3
Janówka	5.VI.1963	<i>G. stercorarius</i>	3	2
Laski	19.IX.1964	<i>G. stercorosus</i>	3	2
Puszczykowo	11.VII.1967	<i>G. stercorosus</i>	12	3
		<i>G. stercorarius</i>	19	5
		<i>G. vernalis</i>	11	3

infection is usually so heavy that symptoms and signs of parasitization are clearly evident.

Specimens of *Geotrupes* spp. were collected in several localities and microscopically examined to determine the percentage of infection. The appropriate figures are given in Table 2. The localities in which infection did not occur were not included into the table.

Summary

A new microsporidian *Plistophora geotrupina* sp. n. parasitic in dung beetles *Geotrupes stercorarius* L., *G. stercorosus* Scriba and *G. vernalis* L. is described. Its spores are oval 5.5—8.0 by 3.9—5.0 μ when fixed and stained with Giemsa's solution. The differentiating and maturation of spores during sporogony is not simultaneous. The main tissues attacked are the gut epithelium and the fat body. The parasite was recorded in various parts of Poland and apparently is widely distributed in Europe.

STRESZCZENIE

Opisano nowy gatunek pierwotniaka *Plistophora geotrupina* sp. n. z rzędu *Microsporidia*, który pasożytuje w żukach gnojownikach *Geotrupes stercorarius* L. *G. stercorosus* Scriba i *G. vernalis* L. Spory utrwalone w alkoholu metylowym i barwione Giemzą miały 5.5—8.0 μ długości i 3.9—5.0 μ szerokości. Sporogonia tego gatunku jest bardzo interesująca gdyż różnicowanie spor z plazmoidalnego schizonta jest rozciągnięte w czasie. Pasożyt rozwija się głównie w nabłonku jelita i ciele tłuszczowym. Pierwotniaka znaleziono w różnych miejscowościach w Polsce a zarażenie populacji żywicieli było wysokie.

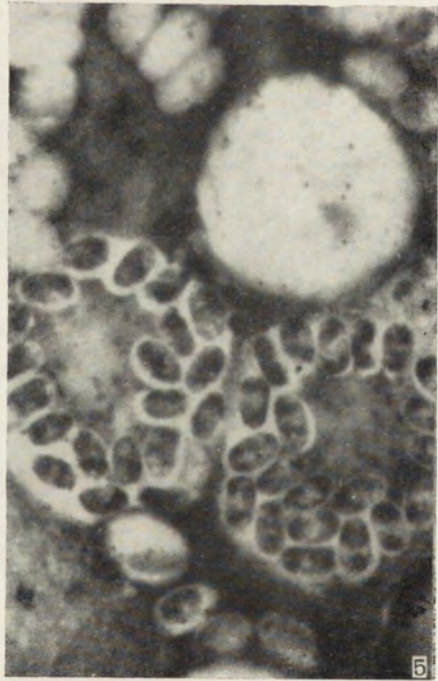
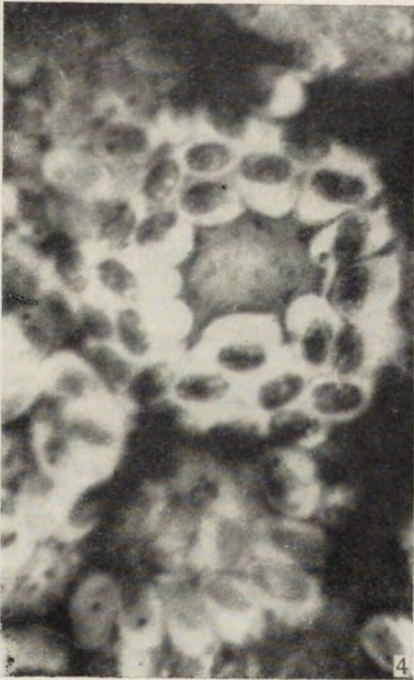
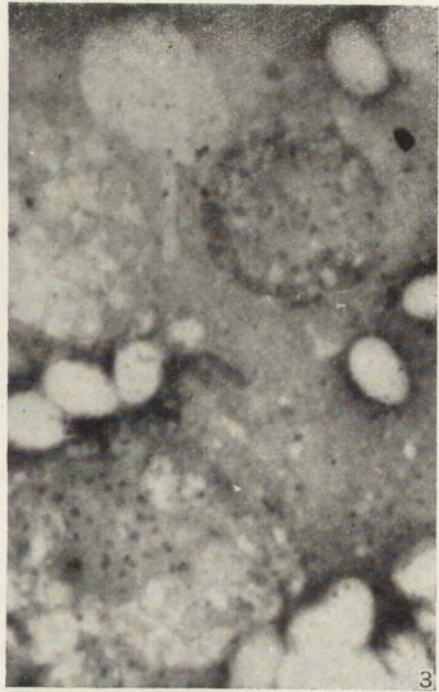
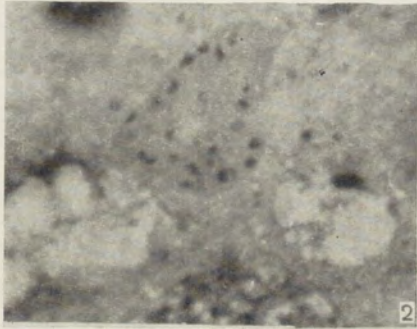
REFERENCES

- Lipa J. J. 1967: Studies on gregarines (*Gregarinomorpha*) of arthropods in Poland, *Acta Protozool.*, 5, 97—179.

EXPLANATION OF PLATES I—IV

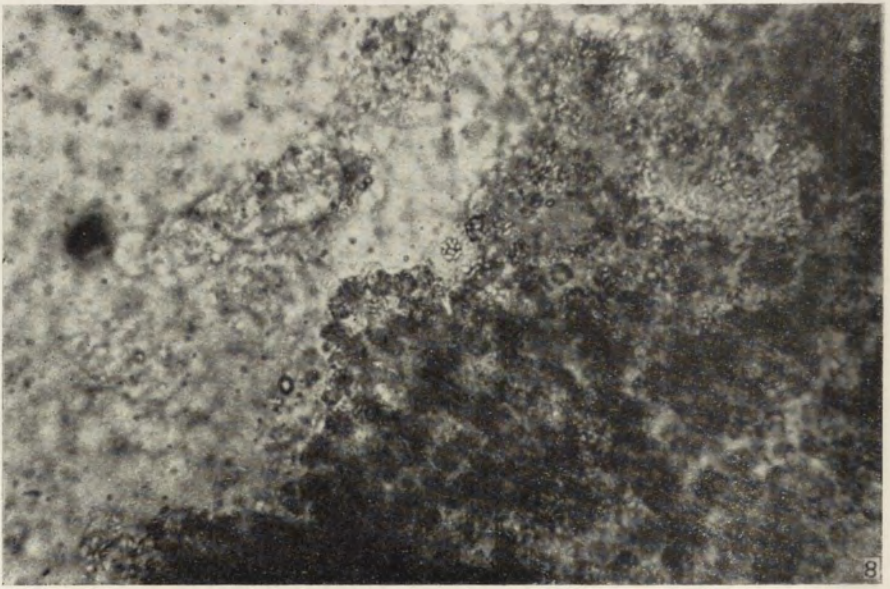
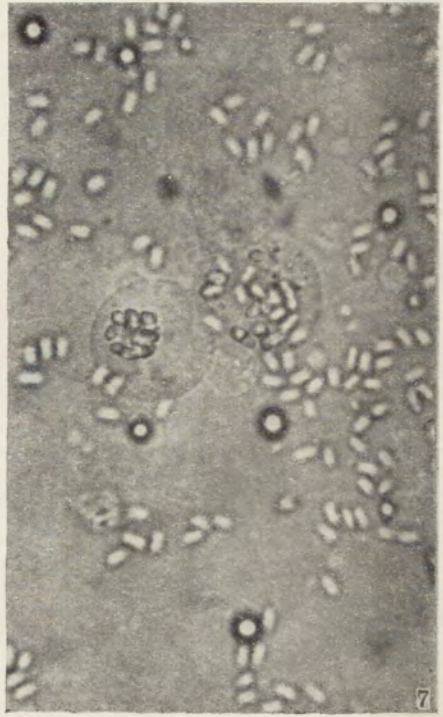
Plistophora geotrupina sp. n.

- 1—3: Multinucleate schizonts and pansporoblast (1200 \times)
 4—6: Various stages of sporogony; notice the perypheric differentiation of spores in a large unstained envelope (1200 \times)
 7: Free fresh spores and pansporoblasts (500 \times)
 8: Fat body completely destroyed by the parasite; notice the great number of pansporoblasts (120 \times)
 9—10: Maturation of spores within pansporoblasts; in Fig. 9 polar filament extruded by mature spores is seen (1200 \times)
 11: Mixed infection caused by gregarine *Didymophyes paradoxa* Stein and *Plistophora geotrupina* sp. n. (550 \times)
 12—13: Microtome section through various parts of the gut of *Geotrupes stercorosus* Scriba showing a huge number of spores of *Plistophora geotrupina* sp. n. (120 \times)



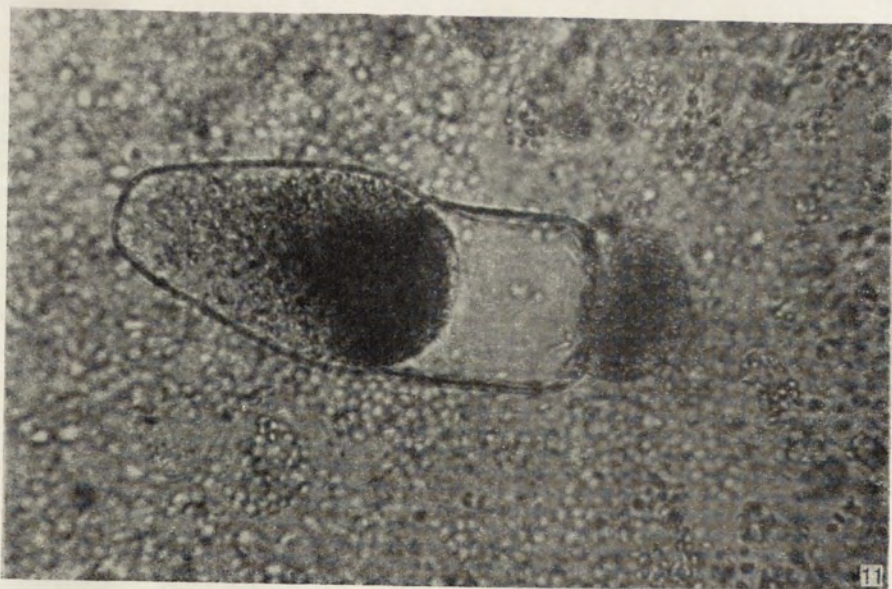
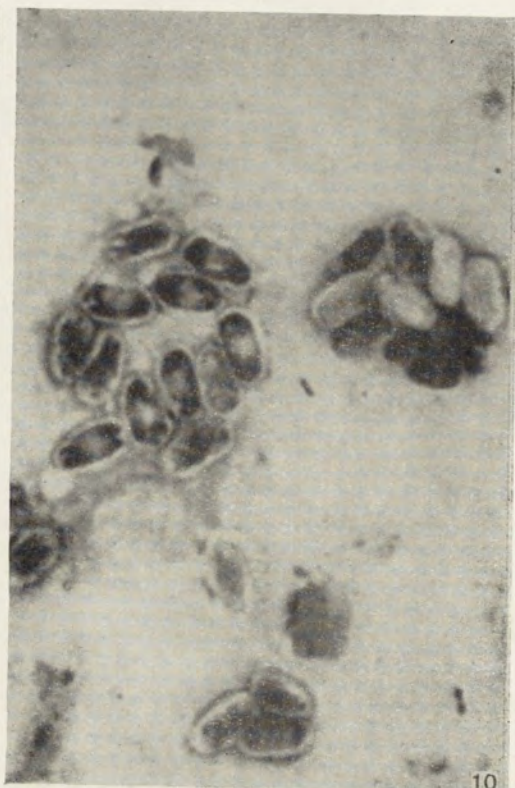
J. J. Lipa

auctor phot.



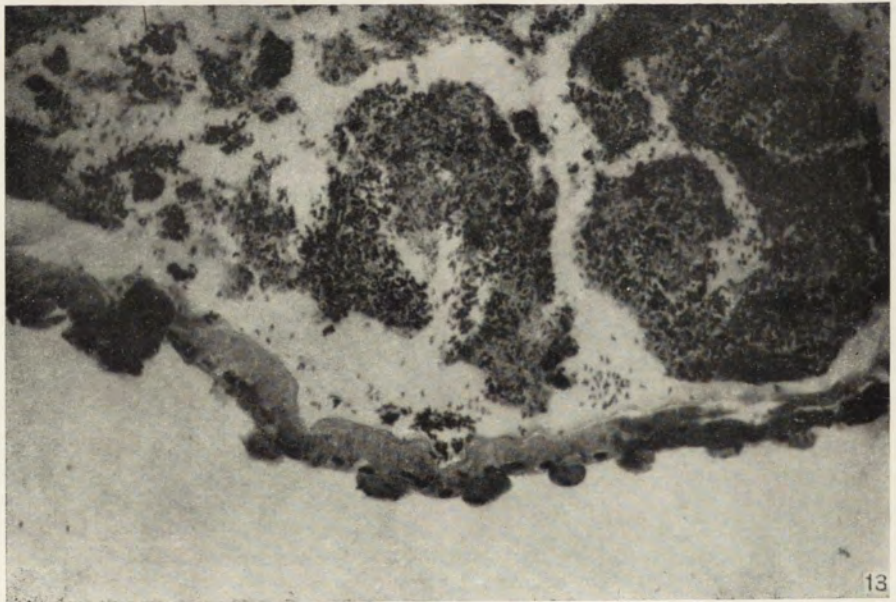
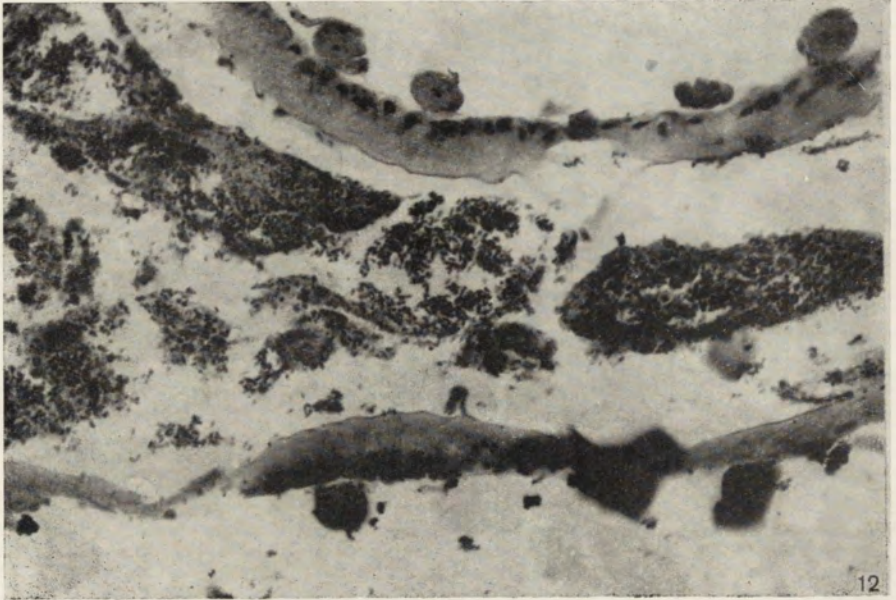
J. J. Lipa

aucter phot.



J. J. Lipa

auctor phot.



J. J. Lipa

auctor phot.

Лаборатория микробиометода Всесоюзного института защиты растений. СССР, Ленинград,
Центр, ул. Герцена 42, СССР

Institute of Plant Protection, Leningrad, Center, Hercen str. 42 USSR

И. В. ИССИ

I. V. ISSI

Stempellia rubtsovi sp.n. (*Microsporidia*, *Nosematidae*) — паразит личинок кавказской мошки *Odagmia caucasica* Rubz. (*Diptera*, *Simuliidae*)

Stempellia rubtsovi sp. n. (*Microsporidia*, *Nosematidae*), a microsporidian parasite of *Odagmia caucasica* larvae (*Diptera*, *Simuliidae*)

Простейшие из отряда микроспоридий паразитируют на животных, относящихся ко многим систематическим типам. Наибольшее число видов описано из представителей членистоногих, главным образом, насекомых. К настоящему времени наиболее полно изучена фауна микроспоридий водных форм *Nematocera*: для *Culicidae*, *Chironomidae* и *Simuliidae* известно около 50 видов этих паразитов. Из мошек описано 4 вида рода *Thelohania*, 2 вида рода *Plistophora* и по одному виду родов *Nosema*, *Octosporea*, *Caudospora* и *Weiseria* (Weiser 1961, 1966). Однако, повидимому, список микроспоридий, паразитирующих на мошках, далеко не исчерпан.

В материале, переданном нам проф. И. А. Рубцовым на определение, в личинках *Odagmia caucasica* была обнаружена микроспоридия из рода *Stempellia*, ранее не известного для этого семейства двукрылых. Хозяин микроспоридии — кавказская мошка *O. caucasica* представляет большую серию форм, связанных в своём распространении с Кавказом. Морфологически вид очень сходен с украшенной мошкой *O. ornata* (Mg.), видом, широко распространённым по всей Палеарктике, в южных районах Европейской и Азиатской частей Советского Союза и в сопредельных странах, включая юг Средиземноморья и Ориентальную зону (Рубцов 1956).

В нашем распоряжении были 2 личинки последнего возраста, зараженные микроспоридиями в сильной степени. Жизненный цикл паразита и патогенез изучались по препаратам, изготовленным из материалов, ранее зафиксированных в 70° спирте. Из одной личинки было приготовлено несколько мазков, часть которых была окрашена по Гимза-Романовскому или Творту, другие, импрегнированы серебром по Фонтана, один без окраски заключён в глицерин-желатину.

Из второй личинки была приготовлена серия срезов для изучения патогенеза и локализации паразита в тканях хозяина. Срезы толщиной от 6 до 12 μ были окрашены по Гимза-Романовскому и железным гематоксилином по Вейгерту.

Изучение материала показало, что по целому ряду признаков микроспоридию следует отнести к новому виду, описание которого и составляет материал данной статьи.

Stempellia rubtsovi sp. n.

Хозяин: мошка *Odagmia caucasica* Rubz.

Локализация: паутинные (слюнные) железы личинок.

Место обнаружения: водопад Аксу, Закавказье, апрель 1951 года, сборы Джафарова.

Спорогония

Самой ранней стадией развития паразита, найденной в клетках прядильных желёз, были единичные диплокарионы, размером от 4.8 до 5 μ (Рис. 1 а). Более часто встречаются клетки микроспоридии такого же размера как диплокарионы, но с одним крупным ядром до 4.8 μ , занимающим почти всю клетку и окруженным узкой зоной цитоплазмы (Рис. 1 б).

Следующая стадия развития паразита представлена клетками с одним компактным ядром каждая — споронтами (Рис. 1 с). Ядро споронта последова-

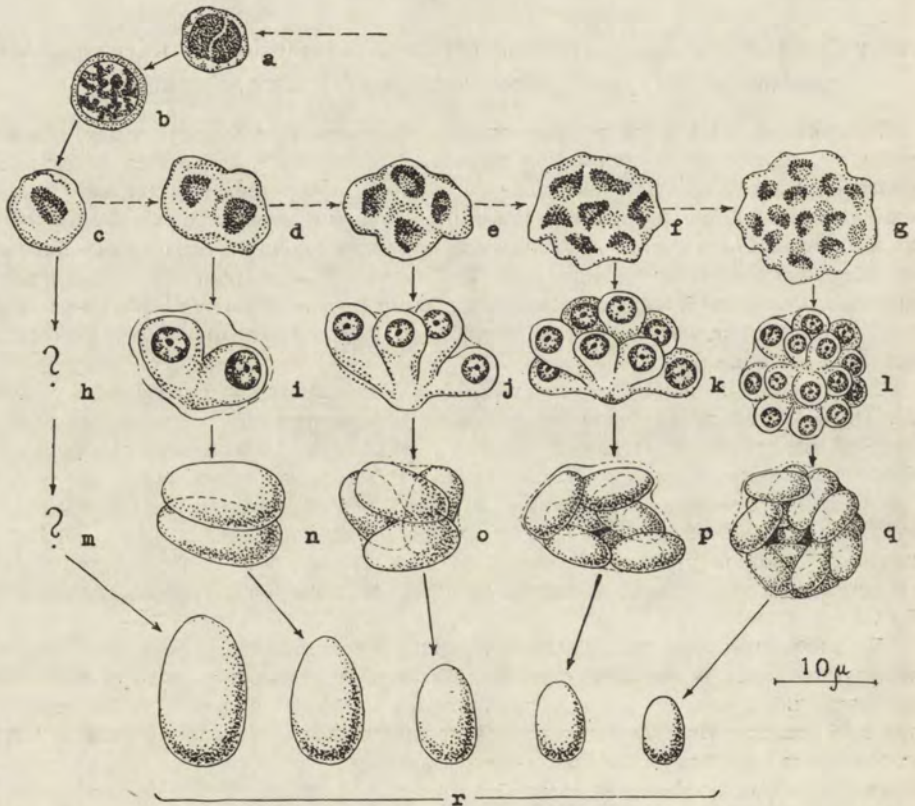


Рис. 1. Спорогония микроспоридии *Stempellia rubtsovi* sp. n. а — диплокарион, б—с — образование споронта, d—g — деление ядер споронта, i—l — обособление споробластов, n—q — панспоробласты, r — споры

Fig. 1. Sporogony of microsporidians *Stempellia rubtsovi* sp. n. а — diplocaryon, б—с — sporont formation, d—g — division of sporont nuclei, i—l — formation of sporoblast, n—q — pansporoblasts, r — spores

тельно делится либо на 2, либо на 4, либо на 8 ядер, реже на 16 или не делится вообще (Рис. 1 d—g). Дочерние ядра мигрируют на периферию клетки. Участки цитоплазмы с ядрами выпячиваются, образуя пальцевидные выросты, и обособляются. В дальнейшем из них образуются споробласты (Рис. 1 i—l).

Споробласты, соединённые остатками цитоплазмы споронта, держатся вместе до созревания спор, образуя 2-, 4-, 8- и 16-членные панспоробласты (Рис. 1 n—q). Процентное соотношение таких панспоробластов у этого вида представлено на Таблице 1. Размеры панспоробластов с разным числом спор различаются незначительно.

Таблица 1

Table 1

Размеры (в μ) и процентное соотношение панспоробластов с разным числом спор у *Stempellia rubtsovi* sp. n.

Dimensions (in μ) and frequency (in per cent) of pansporoblasts with the various number of spores in *Stempellia rubtsovi* sp. n.

Число спор, образующихся из одного споронта Number of spores originating from one sporont	1	2	4	8	16
Процент панспоробластов Frequency of pansporoblasts	6	27	33	30	4
Размер панспоробластов Dimensions of pansporoblasts		10.8×7.8	9.6—10.8 × 7.2—10.8	10.8—12.0 ×12.0	

Спора

Для данного вида характерны большие различия в размерах спор, т.к. в процессе спорогонии при каждом последовательном делении ядер образуются споры меньших размеров.

Таблица 2

Table 2

Размеры спор *Stempellia rubtsovi* sp. n. в зависимости от их числа в панспоробласте

Dimensions of spores of *Stempellia rubtsovi* sp. n. depending on their number in pansporoblast

Число спор, образующихся из одного споронта Number of spores originating from one sporont	1	2	4	8	16
Размер спор в μ Dimensions of spores in μ	15.0—16.3 × 6.0—8.4	12.0—13.3 × 5.4—7.3	9.6—10.8 × 4.2—5.4*	7.3—7.8 × 3.6—4.8*	5.4—6.0 × 3.6—3.8

* Наиболее часто встречающиеся размеры
The most frequent dimensions

Размеры спор, фиксированных в 70° спирте, а затем заключенных в глицерин-желатину, представлены в Таблице 2.

Из таблицы видно, что при каждом последовательном делении длина спор уменьшается сильнее, чем ширина. Поэтому споры разных размеров имеют несколько различную форму: у более крупных она удлиненно-овальная, приближается к яйцевидной, у мелких — широко-овальная, с одинаково тупо закруглёнными полюсами (Рис. 1 г).

Спора имеет толстую оболочку, хорошо развитую заднюю вакуоль и меньшего размера поляропласт Хугера, двудерную спороплазму и очень длинную полярную нить, многочисленные витки которой видны под оболочкой при окрашивании по Творту и по Фонтана (Рис. 2).



Рис. 2. Споры *Stempellia rubtsovi* sp. n. А — окраска по Творту, В — фиксация в глицерин-желатине, С — окраска по Гимза-Романовскому

Fig. 2. Spores of *Stempellia rubtsovi* sp. n. А — stained after Twort, В — fixed in glycerol-gelatin, С — stained after Giemsa-Romanovsky

Следует отметить, что у этого вида, также как у *S. magna* Kudo, 1920, часто встречаются панспоробласты с нечётным числом спор, имеющих разную величину (Bailey, Bagnes and Dewey 1967). При этом более крупные споры, как правило, уродливые. При окрашивании по Гимза-Романовскому видно, что они состоят из нескольких спор, не успевших разделиться в силу каких-то невыясненных пока причин (Рис. 3). Большинство одиночных спор по внешнему виду не отличается от нормальных, но их внутреннее строение, как показала окраска, атипично и мало отличается от строения споронта: полярная нить у них не формируется; ядро либо одиночное и крупное, либо отсутствует совсем; оболочка значительно тоньше, чем у нормальных спор.

Образование одиночных нежизнеспособных спор характерно и для других видов рода *Stempellia*, таких как *S. magna*, *S. mutabilis* Léger et Hesse и *S. calopterygis* Weiser, и очевидно представляет одну из особенностей их развития.

Признаки вида, перечисленные выше, а именно: небольшое вариабильное число спор, образующихся в панспоробластах, а также уменьшение размера спор при каждом последовательном делении ядер, говорят о его принадлежности к роду *Stempellia*.

В настоящее время известно 6 видов этого рода, паразитирующих на насекомых (Таблица 3). Как видно из таблицы, новому виду наиболее близок паразит

личинок комаров *S. magna*. Основным морфологическим отличием между ними служит форма спор: узкая грушевидная у *S. magna* и широко-овальная с тупо-закруглёнными полюсами у описываемого вида. Существенным отличием от всех ранее описанных видов следует также считать локализацию нового вида, развитие которого проходит в слюнных железах хозяина. Кроме того, в настоящее время общепризнано, что каждое семейство водных двукрылых имеет свой круг паразитов, не способных развиваться в насекомых других семейств.

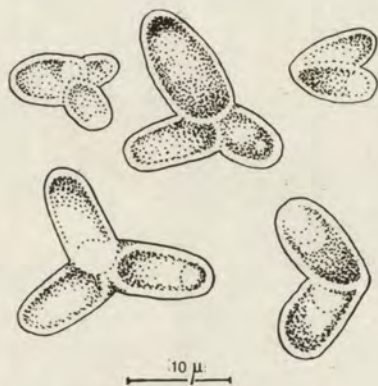


Рис. 3. Уродливые споры *Stempellia rubtsovi* sp. n. из панспоробластов с нечётным числом спор

Fig. 3. Deformed spores of *Stempellia rubtsovi* sp. n. from pansporoblasts with odd number of spores

Все эти отличия дали нам основание считать описываемый вид новым. Видовое название дано в честь проф. И. А. Рубцова, в течение многих лет ведущего работы по изучению паразитов мошек. Препараты со стадиями развития нового вида находятся в коллекции автора в Лаборатории микробиометода Всесоюзного института защиты растений (№№ 30.5.1 — 30.5.15).

Патогенез

У обеих личинок, зараженных микроспоридиями, зафиксировано сильное поражение заднего и среднего (т.е. секреторных) отделов паутинных желёз. Свободными от паразитов были только клетки выводного протока.

К моменту исследования цитоплазма инвазированных клеток была полностью заполнена стадиями спорогонии паразита. Границы между клетками стали незаметными, от ядер остались отдельные хроматиновые глыбки. В тех редких случаях, когда было возможным установить размеры зараженных клеток, они оказались равными 250 μ , в то время как нормальные клетки не превышают 200 μ . Просвет железы в заднем и среднем отделах полностью исчез.

Паутинные железы мошек имеют большое значение в жизни их личинок т.к. „с помощью клейкого секрета, выделенного железами, личинки прикрепляются к субстрату или повисают на паутинке в токе воды” (Рубцов 1956 стр. 52).

Трудно предположить, чтобы настолько изменённый орган функционировал нормально и мог выделять клейкий секрет. В таком случае личинки, зараженные микроспоридиями, теряют способность прикрепляться к субстрату и смыываются проточной водой. Это объясняет редкие случаи нахождения личинок,

Таблица 3
Table 3

Признаки видов рода *Stempellia*
Characteristic of species within the genus *Stempellia*

Вид микроспоридии Species of microsporidian	Насекомое — хозяин Host insect	Локализация парази- та Localization of parasite	Место обнаруже- ния Distribution	Форма спор Shape of spore	Число спор в панспоробластах Number of spores in pansporoblast	Размер спор в μ Dimensions of spore in μ
<i>S. mutabilis</i> (Léger et Hesse, 1910)	<i>Ephemera</i> <i>vulgata</i> L. (<i>Ephemeri-</i> <i>meridae</i>)	жировое тело личи- нок fat body of larvae	Франция France	яйцевидная или грушевидная egg- or pear- shaped	2, 4 редко 1, 8 2, 4 seldom 1, 8 1-уродливые 1-deformed	2—6
<i>S. magna</i> (Kudo, 1920)	<i>Culex pipiens</i> L. <i>C. territans</i> Но- ward (<i>Diptera</i> , <i>Simuliidae</i>)	жировое тело, зад- ние участки сред- ней кишки и эпите- лий трахей fat body, posterior part of middle gut and epithelium of trachea	Северная Амери- ка North America	грушевидная pear-shaped	2, 4 и 8, редко 1, 2, 4 and 8 seldom 1	12.5—16.5 × 4.0—4.6 25×10
<i>S. polyspora</i> (Léger et Hesse, 1921)	<i>Tanypus</i> sp. (<i>Diptera</i> , <i>Chiro-</i> <i>nomidae</i>)	жировое тело личи- нок fat body of larvae	Франция France	удлинённо- овальная elongated oval	1-уродливые 1-deformed	2—3.2
<i>S. legeri</i> (Paillot, 1941)	<i>Clystia ambiguella</i> Hbn. (<i>Lepidop-</i> <i>tera</i>)	эпителий средней кишки и другие органы epithelium of middle gut and other organs	Франция, Чехо- словакия France, Czecho- slovakia	яйцевидная egg-shaped	2, 4, 8, 16 или 24 2, 4, 8, 16 or 24	2×1

продолжение
continued

Вид микроспоридии Species of microsporidian	Насекомое — хозяин Host insect	Локализация парази- та Localization of parasite	Место обнаруже- ния Distribution	Форма спор Shape of spore	Число спор в панспоробластах Numbers of spores in pansporoblast	Размер спор в μ Dimensions of spore in μ
<i>S. calopterygis</i> (Weiser, 1956)	<i>Calopteryx virgo</i> L., <i>Calopteryx</i> sp. (<i>Odonata</i>)	жировое тело личи- нок fat body of larvae	Чехословакия, Югославия Czechoslovakia, Yugoslavia	овальная, с одной стороны упло- щенная oval, flattened at one side	4 или 8, редко 1 4 or 8 seldom 1 1-уродливые 1-deformed	3.5×1.7 $5-8 \times 3.0-4.5$
<i>S. amasiae</i> (Stammer, 1956)	<i>Amasia funebris</i> Meig. (<i>Diptera</i> , <i>Bibionidae</i>)	жировое тело личи- нок fat body of larvae	Германия Западная Germany West	яйцевидная egg-shaped	8, 16, 24 и более 8, 16, 24 and more	$4-6 \times 2.5-3$
<i>S. rubtsovi</i> sp. n.	<i>Odagmia cau- casica</i> Rubz. (<i>Diptera</i> , <i>Stimuli- idae</i>)	паутинные железы личинок salivary glands of larvae	Закавказье СССР Caucasus, USSR	от широкооваль- ной до яйце- видной wide oval to egg-shaped	2, 4, 8, редко 1 или 16, 2, 4, 8, seldom 1 or 16 1-уродливые 1-deformed	$5.4-16.3$ \times $3.6-8.4$

инвазированных микроспорицией *S. rubtsovi* sp. n. К числу других патологических изменений в организме насекомых следует отнести слабое развитие жирового тела, которое у личинок V возраста достигает своего максимального развития. Оно свидетельствует о сильном угнетении мошек развивающимися в них микроспоридиями. По всей вероятности, дальнейшее развитие и метаморфоз личинок, зараженных в сильной степени *S. rubtsovi* sp. n. — не возможны.

Резюме

Новая микроспоридия *Stempellia rubtsovi* sp. n. обнаружена в личинках последнего возраста *Odagmia caucasica* Rubz., собранных в Закавказье. В процессе спорогонии микроспоридии образуются односпоровые формы и 2-, 4-, 8- и 16-членные панспоробласты. Споры имеют широко-овальную форму, их размеры $5.4-16.3 \times 3.6-8.4 \mu$. Паразит развивается в секреторном отделе паутинных желёз и полностью разрушает клетки этого отдела.

SUMMARY

Microsporidian *Stempellia rubtsovi* sp. n. (Nosematidae) was found in larvae of *Odagmia caucasica* Rubz. (Simuliidae) collected at Aksu Falls in Caucasus. The various number of spores from 1 to 16 develop in the course of the sporogony. The typical spores are wide-oval. The dimensions of spores are: $5.4-16.3 \times 3.6-8.4 \mu$. *S. rubtsovi* sp. n. parasitizes in the salivary glands and causes the destruction of their cells.

ЛИТЕРАТУРА

- Bailey D. L., Barnes W. W. and Dewey R. W. 1967: *Stempellia magna* (Kudo) (Nosematidae: Microsporidia) in *Culex restuans* Theobald from Virginia. Mosquito News, 27, 111—114.
- Kudo R. 1920: On the structure of some microsporidian spores. J. Parasit., 6, 178—182.
- Kudo R. 1924: A biologic and taxonomic study of the Microsporidia. Illinois biolog. Monogr., 9, 7—268.
- Рубцов И. А. 1956: Мошки (сем. Simuliidae) в „Насекомые двукрылые фауны СССР” 6(6), АН СССР.
- Weiser J. 1961: Die Mikrosporidien als Parasiten der Insekten. Monograph. zur angew. Entomologie, Hamburg-Berlin, I—149.
- Weiser J. 1966: Nemoci hmyzu, Academia, Praha, 1—554.

Stanisław L. KAZUBSKI

Seasonal variability of *Thigmocoma acuminata* Kazubski, 1958
(*Thigmatricha*)Zmienność sezonowa *Thigmocoma acuminata* Kazubski, 1958
(*Thigmatricha*)

In my extensive previous publication concerning *Thigmocoma acuminata* Kazubski, 1958, the morphology and growth of this ciliate had been discussed in details (Kazubski 1963). Unfortunately I had failed to pay attention to the seasonal variability which was demonstrated in the recent studies on some species of *Trichodina* (Kazubski and Migala 1967, 1968). However the previous measurements of length in 2000 individuals of *Thigmocoma acuminata* from the whole year material enabled me to retake this subject.

Material was collected in autumn 1957 and in spring, summer, and autumn 1958. The dates of sampling are represented in the Table 1. The majority of material originated from the same place, namely from the surrounding of Sanok in south-east Poland. The measurements presented concern only the length of the ciliates which were dried and impregnated according the method of Klein. Other data concerning *Th. acuminata* in the seasonal span were not available to me. Considering the applicability of the length measurements of *Th. acuminata* for the present study, the following points should be noted. The length of many ciliates, among others *Th. acuminata*, undergoes rather insignificant changes as a result of drying. This is due to the presence of a resistance system arrayed longitudinally (rows of cilia, argentophilic fibrils). On the other hand the length of ciliate increases perceptibly during its growth.

In the material studied all the categories of individuals, independently of their age, were examined, except the dividing forms and those at very early postdivision stages. Fortunately the great number of samples and the random selections of ciliates for measurements permit to expect objective results.

The results have been demonstrated in Table 1 and in the diagram (Fig. 1). It was found that despite a rather high fluctuation of the dimensions, the disposition of the means is regular. Two groups of means are distinctly observable. One of them is provided by the data from July, August, and October, they oscillate within the limits 80—81 μ , the other — from November, May, and June — fluctuating about 85 μ . The differences between those two groups of means are apparently small, however the statistical analysis proved their existence. Significance of differences between the means was studied

by the test of Cochran and Cox because in one case the variance deviated from the others. This test proved, at the 1 per cent point, the lack of significant differences between the means within each group and highly significant differences in the moment of transition from one group to the other (Table 1).

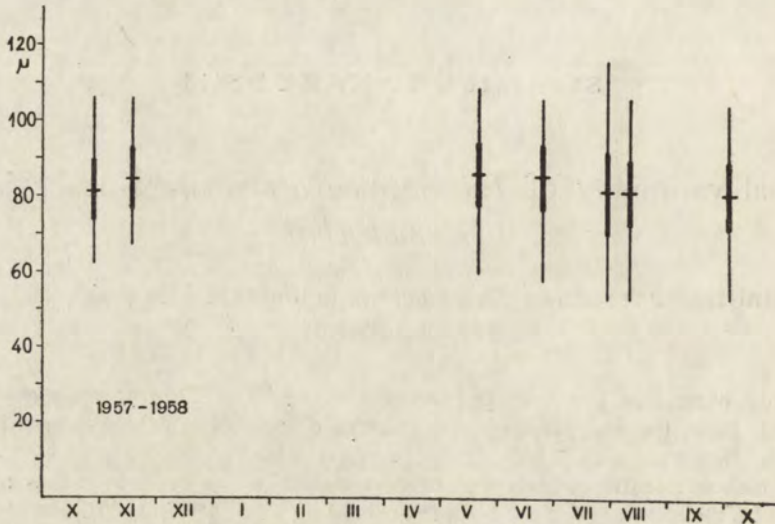


Fig. 1. Seasonal variability of the body length of *Thigmocoma acuminata*; ranges, standard deviations and means are marked. Two levels of means are distinctly visible

The alternations in *Thigmocoma acuminata* length, as observed in this study, have a similar course as in some *Trichodina* (Kazubski and Migala 1967, 1968). In this case the diminution of dimensions occurred also in summer season, and their increase took place in winter. These changes however are less distinct in *Th. acuminata*. Much more important difference between *Th. acuminata* and *Trichodina* concerns the period in which the observed forms

Table 1
Measurements of the body length of *Thigmocoma acuminata*

Dates	1957		1958					
	26 Oct.	15—17 Nov.	12—26 May	21—26 June	28—29 July	10 Aug.	2—5 Oct.	
Range	62.4— —106.3	67.0— —106.3	60.1— —103.6	57.8— —106.3	53.1— —115.5	53.1— —106.3	53.1— —104.0	
Mean	81.0	84.3	85.7	85.1	80.9	80.9	80.1	
Standard deviation	8.3	8.2	8.5	8.5	11.0	8.5	8.5	
C^0		2.82	2.14	1.04	5.06	0	1.13	0.77
$C_{0.01}$		2.64	2.59	2.59	2.59	2.59	2.59	2.65
n	63	253	451	420	239	259	315	

appear. In *Th. acuminata*, the period of occurrence of small forms begins in July and persists till October being consequently delayed when compared with the analogical period in *Trichodina*. Possibility this is the result of action of the mountain climate and of the specific territory conditions which are regulated by the running waters.

Summary

The seasonal variability in *Thigmocoma acuminata* Kazubski, 1958 was studied by means of measurements of the body length. It was demonstrated that the means of body length are at a higher level in autumn and in spring than in summer and in autumn till October. Those differences are statistically significant. Within each group however no statistically significant differences were stated. The direction of dimensions variability was found to be the same in *Thigmocoma acuminata* as it is in *Trichodina*.

STRESZCZENIE

Przedstawiono na przykładzie pomiaru długości ciała zmienność sezonową u *Thigmocoma acuminata* Kazubski, 1958. Wykazano, że średnie długości ciała późną jesienią i wiosną kształtują się na wyższym poziomie niż latem i jesienią (do października). Różnice te są statystycznie istotne, przy braku statystycznie istotnych różnic wewnątrz każdej z grup. Stwierdzono, że kierunek zmian wielkości *Thigmocoma acuminata* jest taki sam jak u *Trichodina*.

REFERENCES

- Kazubski S. L. 1963: Studies on the parasitic ciliate *Thigmocoma acuminata* Kazubski (*Thigmotricha* — *Thigmocomidae*). Acta Protozool., 1, 237—278
- Kazubski S. L. and Mięgała K. 1967: The seasonal variability in *Trichodina*. J. Protozool., 14, suppl. 138
- Kazubski S. L. and Mięgała K. 1968: *Urceolariidae* from breeding carp — *Cyprinus carpio* L. in Żabieniec and remarks on the seasonal variability of trichodinids. Acta Protozool., 6, 000—000

Faint, illegible text at the top of the page, possibly a header or introductory paragraph.

Second block of faint, illegible text, appearing as a separate paragraph.

Third block of faint, illegible text, continuing the document's content.

Fourth block of faint, illegible text, possibly a concluding section or list.

A. N. Bach Institute of Biochemistry, Academy of Sciences of USSR, Moscow W-71,
Leninskij prospekt 33, USSR

S. A. BURNASHEVA,
M. V. OSTROVSKAJA, G. A. YURZINA

The ultrastructure of flagella in *Strigomonas oncopelti*

Ультраструктура жгутов *Strigomonas oncopelti*

The numerous investigations of ultrathin sections of protozoan cilia and flagella and of the animal sperm cells, revealed an amazing uniformity of their internal structure (Fawcett and Porter 1954, Bradfield 1955, Afzelius 1961, Gibbons and Grimmstone 1960, André 1961, Fawcett 1961, Cheissin and Mosevich 1962, Satir 1965, Burnasheva, Fjedorova, Ljubimova 1963, Fiedorova, Burnasheva 1963). Irrespectively of the cell type to which these movement organelles are related, they have a common pattern of structure. They are constituted of fibrils arranged in a strictly definite manner: two single central fibrils are always surrounded with a wreath of 9 duplicated fibrils which produce a peripheral ring. In the recent time, the improvement of fixation methods, of embedding the tissues and the rise of resolving power of the electron microscopes permitted to penetrate more deep into the details of the internal organization of cilia and flagella. In the electron microscopic photograms of the transverse sections of the central and peripheral fibrils of flagella in *Chlamydomonas reinhardi* (Ringo 1967), of cilia in *Tetrahymena pyriformis* (Burnasheva, Yurzina and Beskrovnova 1968), of microtubules of plant cells (Ledbetter and Porter 1964), spherical subunits of a diameter 35—45 Å have been revealed. On longitudinal sections of cilia and flagella, a repeating periodicity is revealed being conditioned by the specific regulated linear packing of the subunits which constitute the envelope or the wall of the fibrils. It was demonstrated also by the method of negative contrasting that each of the central and peripheral fibrils of the sperm flagella (Pease 1963, Burton 1967) of the flagella of *Trichonympha* (Grimstone and Klug 1966), of the cilia in *Tetrahymena pyriformis* (Burnasheva, Jefremenko and Ljubimova 1963), and of the spindle fibrils (Barnicott 1966) are constituted of protofibrils i.e. of filaments representing aggregations of spherical subunits of a diameter 35—45 Å with a linear orientation. The number of subunits is stated on sections by means of the rotation photography after Markham, Frey and Hills 1963, and on negative-stained preparations by the method of the optic diffraction which is applied for the study of the periodicity of structures (Klug and Berger 1964). 10—11 protofibrils have been determined for flagellar fibrils (André et Thiery 1963, Pease 1963). For microtubules and

flagella in *Chlamydomonas reinhardi*, for spindle fibrils (Ringo 1967, Ledbetter and Porter 1964, Barnicott 1966) and for cilia of *T. pyriformis* (Burnasheva, Yurzina i Bezukrovnova 1968) the presence of 13 protofibrils was demonstrated.

In the present publication, the results of electron microscopic study of ultrathin sections of flagellum in *Strigomonas oncopelti* are presented which permit to reveal a more delicate structure of the central and peripheral fibrils of flagellum.

We express our thanks to the director of the Laboratory doctor of biological sciences M. H. Ljubimowa-Engelhardt for her permanent attention and interest in our work.

Material and methods

The flagellate *Strigomonas oncopelti* was cultivated in the sterile nourishing medium of Hottinger with 2% of glucose at temp. 18–20°C for 3–5 days. For diminishing the mobility, flagellates were kept for night at temp. 4°C and concentrated subsequently by centrifugation at 2500 rot/min. for 5 min. in a refrigerator centrifuge. The deposit of protozoa was rinsed 3–4 times in 0.5% solution of NaCl. The rinsed deposit of *Strigomonas oncopelti* was fixed after the method of Kallenberger et al 1958. Dehydration and embedding in metacrylate was performed according to the generally applied method. Sections were prepared with the ultramicrotome LKB. For strengthening the contrast, the preparations were counterstained with lead citrate according to Reynolds 1963. Sections were examined in electron microscope JEM-6 C at the initial magnifications 30 000–50 000 times. Magnification was determined by means of a diffraction grating in which one grade corresponded to 1.667 μ .

Results

The results of investigations proved that the fine structure of flagella in *S. oncopelti* coincide in their general features with that of other protozoa. As seen in Pl. I 1, where the electron micrograph of a longitudinal section of flagellum is represented, the latter one is a typical cylindrical structure constituted of fibrils (tubules) arrayed in a strictly definite manner: two central fibrils are surrounded by a wreath of 9 peripheral doubled fibrils (Pl. I 2) and look on transverse sections as a circle with a compact ring-shaped external area and with an optically void core. The diameter of each fibril fluctuates from 260–270 Å. The distance between the centers of the peripheral fibrils amounts 200 Å and that of the central fibrils—320 Å. The peripheral fibrils are doubled, each of them being constituted of two subfibrils (Pl. I 2 *pf*). On one of the pairs of the peripheral fibrils of flagellum, the so-called arms are revealed (Pl. I 2 *a*), which have been described in all the investigated flagella and cilia. In the matrix of flagellum, between the central and peripheral fibrils, electron-dense points appear. They possibly correspond to the cross sections of the so-called secondary fibrils (Pl. I 2 *sf*), described by André 1961 and by Gibbons and Grimstone 1960.

On the electron micrographs of longitudinal section of flagellum, kinetosome and kinetoplast (Pl. II 3) it is seen that the peripheral flagellum fibrils (*pf*) are continuously connected with kinetosome (*k*) and extend up to the base of kinetoplast (*ki*) which is constituted of a compact network of thin filamentous structures (*n*). Those are enclosed in a double membrane (*s*). The central pair of fibrils (*cf*) — in contrast to the peripheral ones — fails to extend to kinetosome and reaches only the kinetosomal plate (*kp*). The membrane limiting the flagellum is a continuation of the cell membrane. It is two-layered, the distance between its two layers is 40 Å (*m*). In conformity with the findings of Anderson and Ellis 1965 and other authors who revealed the system of tubular fibrils running under the surface membrane of *Trypanosoma lewisi* body, we also demonstrated the presence of similar sub-pellicular tubular fibrils in *Stringomonas oncopelti* (Pl. III 4, IV 5, arrows). In Pl. III 4 a cross section of those tubular fibrils is represented, and in Pl. IV 5, their longitudinal section. In the electron micrographs, of longitudinal sections of flagella, gained at high magnifications (200 000 and more), the central and peripheral fibrils present tiny circles, with a linear disposition and periodicity at 80 Å (Pl. V 7, arrows) and at 140 Å (double arrows). Many authors demonstrated the presence of repeated periodicity along the central and peripheral fibrils of flagella and cilia, as well on the ultrathin sections as after negative staining of preparations of flagella and cilia (Gibbons and Grimstone 1960, André et Thiery 1963, Ledbetter and Porter 1964, Lansing and Lamy 1961). The most recent investigations of ultrathin sections of flagella in *Chlamydomonas reinhardi* (Ringo 1967) and of cilia in *Tetrahymena pyriformis* (Burnasheva, Yurzina, Beskrovnova 1968) and the results of the present study on flagella in *Stringomonas oncopelti*, demonstrated that this periodicity is conditioned by a specific regulated packing of globular spherical subunits around the central and peripheral fibrils. And indeed, in the electron micrographs of ultrathin section of *S. oncopelti* flagellum has a granular structure (Pl. IV 6 s); its thickness is 100—110 Å. A tion of an order 200 000 and more, the internal structure of the flagellum fibril is being revealed more in details (Pl. IV 6): the double membrane of flagellum has a granular structure (Pl. IV 6 s); its thickness in 100—110 Å. The peripheral and central fibrils are composed of spherical subunits with an internal diameter of 35 Å and the external one of 70 Å (Pl. IV 6 su). The number of spherical subunits was stated by means of the rotation photography following Markham and Frey 1963. Fibrils with the most regular round cross section were used for rotation. Models of round subunits were constructed, near in number of subunits to those seen in electron micrographs. They were photographed according the Markham method as described above. The results showed that evidently the number of subunits of the peripheral and central subunits of the flagellum fibrils in *S. oncopelti* is 11. In formation of the intermediate wall between two peripheral fibrils evidently 3 subunits participate on each side. The present — commonly applied — methods of embedding and of preparation the material for electron microscopic investigation of sections, fail to provide a possibility to reveal the nature of the optically void core of the peripheral and central fibrils and of the matrix of flagella and cilia. Are they really compact or filled with a substance which cannot be revealed by the present methods — remains not clear. Evidently a technique

should be worked out which would be suitable for determination of the nature of substance included in the structure $9 \times 2 + 2$.

The data gained as yet permit to represent schematically the array of subunits around the central and peripheral flagellum fibrils as well as their regular linear packing into straight chains along the fibrils, oriented longitudinally — as it is demonstrated in Fig. 1. As seen in the figure, packing of subunits into the longitudinally oriented straight chains, forms a repeating periodicity which produces an impression of a spiral structure of the flagellum fibrils. The turn of the spiral being 80–140 Å and depends presumably on the functional condition of the fibrils.

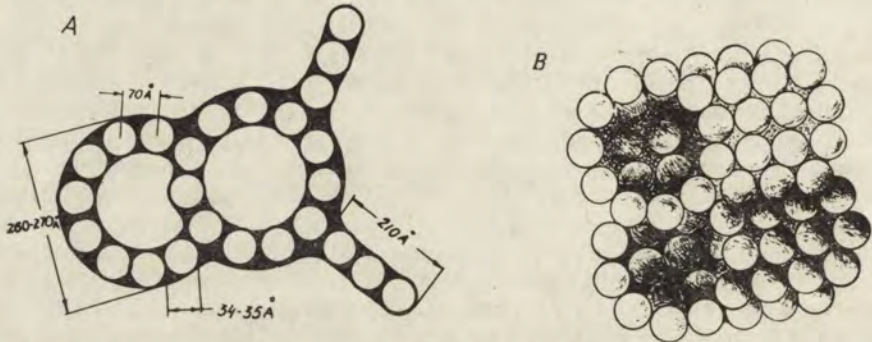


Fig. 1. Schematic array of spherical subunits of central and peripheral fibrils as seen on the transverse (A) and longitudinal (B) sections. The length of subunit diameter, the distance between the central subunits, the length of arms, diameter of fibrils are given. These schemes indicate the possible disposition of globular subunits of protein in the fibrils of *Strigomonas oncopelti* flagellum

When examining the structural similitude between the fibrils of cilia and flagella in protozoa to those in higher organisms, in muscles, and in bacteria — as associated with movement function — a coincidence of packing of their globular proteinic subunits may be observed. The actine muscle fibers consist of two spirally convoluted chains of subunits of a diameter 55 Å. The molecular weight of their monomers being 60 000—70 000 (Hanson and Lowy 1963). Giliev 1966 demonstrated the presence of protofibrils of a diameter 45—55 Å in the composition of myosine fibers in the crab muscle. In the smooth muscles, the presence of subunits was revealed by Panner and Honig 1967. The contractile envelope of T2 bacteriophage has a tubular structure as well. It is constituted of a row of globular subunits (Sarkar, Sarkar and Kozloff 1964). A similar structure has been revealed in flagella of some bacteria (Kerridge, Horne and Glauert 1962). All those findings speak in favour of conformity of the molecular units which constitute the contractile structures performing analogical motoric functions. Elucidation of the nature of flagellar fibrils and of their subunits presents a great interest as well from the functional as structural point of view.

Summary

The study of ultrathin sections of flagella in *Strigomonas oncopelti* in electron microscope of a high resolution revealed the fundamental model characteristic for cilia and flagella of protozoa. Two central fibrils are surro-

unded by 9 double fibrils producing the peripheral ring. It was shown that those fibrils consist of spherical globular subunits of a diameter about 70 Å. On the longitudinal sections of flagella, a repeating periodicity was demonstrated, conditioned by a specific regular packing of globular subunits around each fibril. The number of subunits amounts 11 for each fibril.

РЕЗЮМЕ

Исследования ультратонких срезов жгутов *Strigomonas oncopelti* в электронном микроскопе высокого разрешения обнаружили основную модель, характерную для ресничек и жгутов простейших. 2 центральные фибриллы окружены 9 двоянными фибриллами, образующими периферическое кольцо. Показано, что эти фибриллы состоят из сферических глобулярных субъединиц, диаметром около 70 Å. Обнаруживаемая на продольных срезах жгутов повторяющаяся периодичность обуславливается специфической упорядоченной упаковкой глобулярных субъединиц вокруг каждой фибриллы. Число субъединиц равно 11 на каждую фибриллу.

REFERENCES

- Afzelius B. 1961: Fine structure of cilia from ctenophore swimming-plates. *J. biophys. biochem. Cytol.*, 9, 383—394.
- Anderson W. A. and Ellis R. A. 1965: Ultrastructure of *Trypanosoma lewisi*. Flagellum, microtubules, and the kinetoplast. *J. Protozool.*, 12, 483—499.
- André J. 1961: Sur quelques détails nouvellement connus de l'ultrastructure des organites vibratiles. *J. Ultrastruct. Res.*, 5, 86.
- André J. et Thiery J. P. 1963: Mise en évidence d'une sous-structure fibrillaire dans les filaments axonématiques des flagelles. *J. Microscopie*, 2, 71—80.
- Barnicott N. A. 1966: A note on the structure of spindle fibers. *J. Cell Sci.*, 1, 217—222.
- Brandfield J. R. 1955: Fibre patterns in animal flagella and cilia. *Symp. Soc. exp. Biol.*, 9, 306—334.
- Burnasheva S. A., Jefremenko M. V., Ljubimova M. N. 1963: Issledovanie adenozintrifosfataznoj aktivnosti izolirovannyh resniček infuzorij *Tetrahymena pyriformis* i vydelenie iz nich adenozintrifosfatazi. *Biochimija*, 28, 547—551.
- Burnasheva S. A., Fjedorova L. G., Ljubimova M. N. 1963: Strukturnaja organizacija i biohimičeskie osnovy dviženija resniček i žgutikov. *Usp. sovrem. Biol.*, 56, 365—380.
- Burnasheva S. A., Yurzina G. A., Beskronova H. F. 1968: Ultrastruktura fibrill resniček *Tetrahymena pyriformis*. *Citologija*, 10, 249—252.
- Burton R. 1967: Substructure in negatively stained flagella of *Pteridium spermatozoids*. *J. Ultrast. Res.*, 20, 6—19.
- Cheissin E. M., and Mosevich T. N. 1962: An electron microscope study of *Colpidium colpoda* (*Ciliata*, *Holotricha*). *Arch. Protistenk.*, 106, 181.
- Fawcett D. W. 1961: Cilia and flagella. In *The Cell*. Brachet J. and Mirsky A. (Ed.) Acad. Press, New York, 2, 217—298.
- Fawcett D. W. and Porter K. R. 1954: A study of the fine structure of ciliated epithelia. *J. Morph.*, 94, 221.
- Fjedorova L. G. i Burnasheva S. A. 1963: Elektronmikroskopičeskoe issledovanie tonkoj struktury resniček infuzorij *Tetrahymena pyriformis*. *Citologija*, 5, 689—691.
- Gibbons J. R. and Grimstone A. V. 1960: On flagellar structure in certain flagellates. *J. biophys. biochem. Cytol.*, 7, 697—716.

- Gilev V. P. 1966: O tonkom stroenii „miozinovych“ protofibrill poperečnopolosatogo myšečnogo volokna. *Biofizika*, 11, 274—277.
- Grimstone A. V. and Klug A. 1966: Observations on the substructure of flagellar fibers. *J. Cell Sci.*, 1, 351—362.
- Hanson J. and Lowy J. 1963: The structure of F-actin and actin filaments isolated from muscle. *J. molec. Biol.*, 6, 46.
- Kellenberger E., Ryter A. and Sechaud J. 1958: Electron microscope study of DNA-containing plasma. *J. biophys. biochem. Cytol.*, 4, 671—676.
- Kerridge D., Horne R. W. and Glauert A. M. 1962: Structural components of flagella from *Salmonella typhimurium*. *J. molec. Biol.*, 4, 227.
- Klug A. and Berger J. E. 1964: An optical method for the analysis of periodicities in electron micrographs with some observations on the mechanism of negative staining. *J. molec. Biol.*, 10, 565—569.
- Lansing A. J. and Lamy F. 1961: Fine structure of the cilia of rotifers. *J. biophys. biochem. Cytol.*, 9, 799.
- Ledbetter M. C. and Porter K. R. 1964: Morphology of microtubules of plants cells. *Science*, 144, 872—874.
- Markham R., Frey S. and Hills G. J. 1963: Methods for the enhancement of image detail and accentuation of structure in electron microscopy. *Virology*, 20, 88.
- Panner B. J., Honig C. R. 1967: Filament ultrastructure and organization in vertebrate smooth muscle. Contraction hypothesis based on localization of actin and myosin. *J. Cell Biol.*, 35, 303—323.
- Pease D. C. 1963: The ultrastructure of flagellar fibrils. *J. Cell Biol.*, 18, 313—326.
- Reynolds E. S. 1963: The use of lead citrate of high pH as an electron-opaque stain in electron microscopy. *J. Cell Biol.*, 17, 208—213.
- Ringo D. L. 1967: The arrangement of subunits in flagellar fibers. *J. Ultrastruct. Res.*, 17, 266—277.
- Sarkar N., Sarkar S. and Kozloff L. 1964: Tail components of T2 bacteriophage. 1. Properties of the isolated contractile tail sheath. *Biochemistry*, 3, 511.
- Satir P. 1965: Structure and function in Cilia and Flagella; in: *Protoplasmatologia* B, III, 1—52.

EXPLANATION OF PLATES I—V

1: Electron microgram of a longitudinal section of flagellum of *Strigomonas oncopelti*. Central (*cf*) and peripheral (*pf*) fibres running along the flagellum length are seen, membrane (*m*). 93 000 X.

2: Electron microgram of transverse section of flagellum of *S. oncopelti*. Two central fibrils (*cf*) and 9 double peripheral fibrils (*pf*) are seen. Arrows indicate the electron-dense space (diameter 70 Å) around each fibril. Between the central and peripheral fibrils, a supplementary wreath of 9 points is seen, the so called secondary fibres (*sf*). On one of the peripheral fiber pair, arms are seen (*a*). 91 000 X.

3: Electron microgram of longitudinal section of flagellum, kinetosome (*k*) and kinetoplast (*ki*) of *S. oncopelti*. The position of flagellum, kinetosome and kinetoplast in the cell are seen. Flagellum is continuously connected with kinetosome by the peripheral fibrils (*pf*), extending to the base of kinetoplast (*ki*) constituted by a dense network of thin filamentous structure (*n*) embraced by a double membrane (*s*). The central pair of fibrils terminates at the kinetosomal plate (*kp*); *m* — membrane. Arrows indicate the linear disposition of tiny circles in the central and peripheral fibers involving the periodicity of 80—140 Å. 85 200 X.

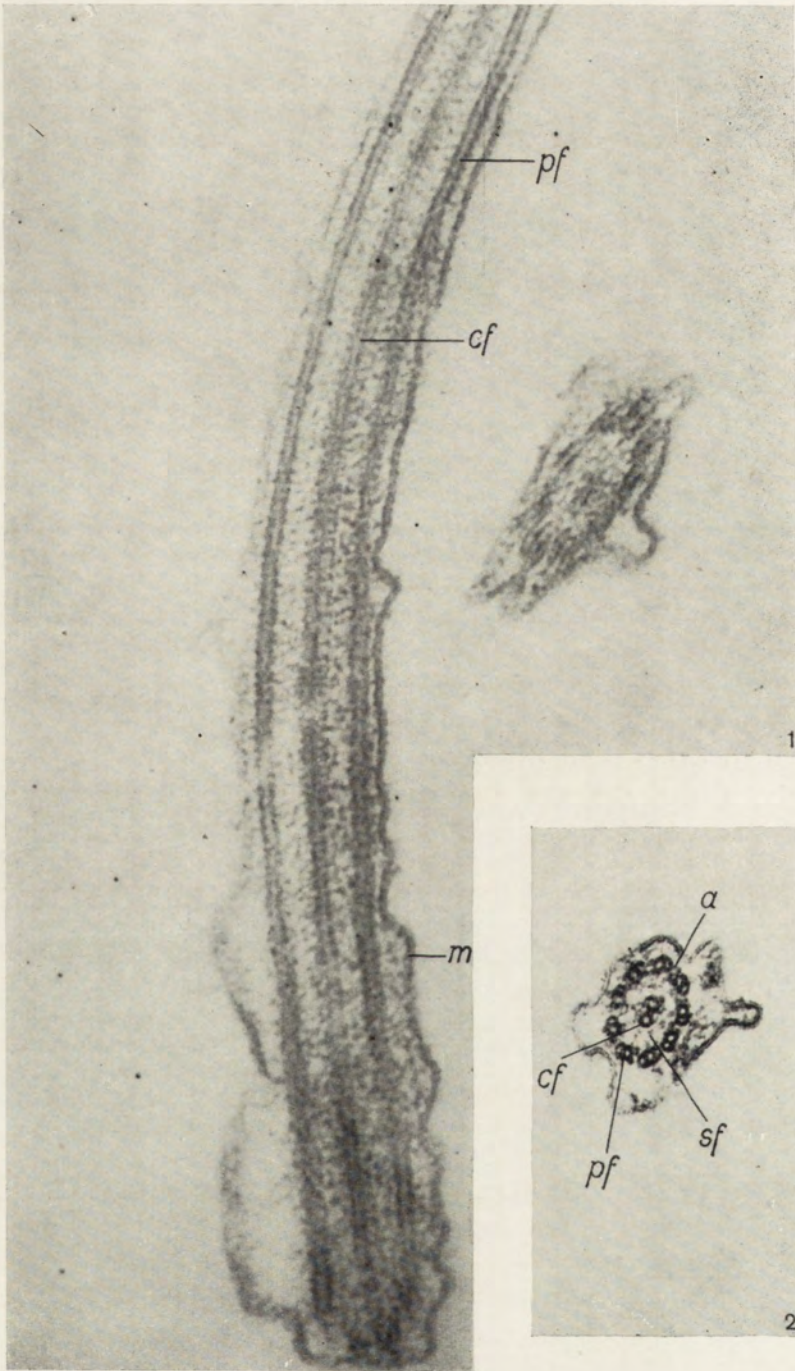
4: Electron micrograph of transverse section of *S. oncopelti* cell. The cross section of flagellum and of tubular fibrils running under the envelope of flagellum and of the cell (arrows) are seen; *mi* — mitochondria. 91 000 X.

5: Longitudinal section of sub-pellicular tubular fibrils, running under the pellicular cell envelope. 150 000 X.

6: Electron micrograph of transverse section of *S. oncopelti* flagellum at the magnification of 205 000. Double membrane (*s*) of a granular structure, its thickness amounts 100—110 Å. Peripheral and central fibrils consist of spherical subunits with the internal diameter 35 Å and the external one (*su*) — 70 Å. In the arms of the peripheral fibrils (*a*), spherical subunits-being 3 are also seen, 205 000 X.

7: Longitudinal section of flagellum of *S. oncopelti*. Thin arrows indicate the linear disposition of subunits along the fibril, forming a periodicity at 80 Å. Double arrows indicate the site along the fibril length where the linear disposition of subunits forms a periodicity at 140 Å. 205 000 X.

1—4 electron microscope JEM-5C, 5—7—JEM-6C



S. A. Burnasheva et al.

autores phot.



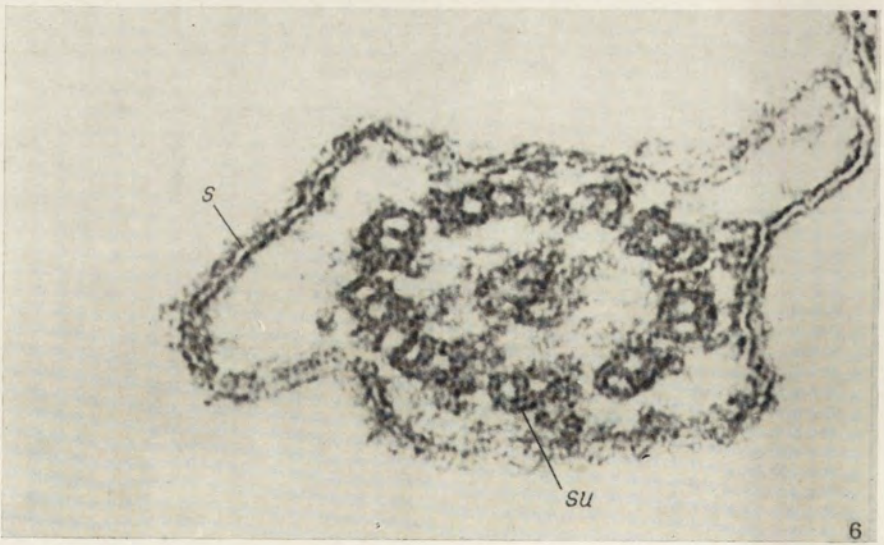
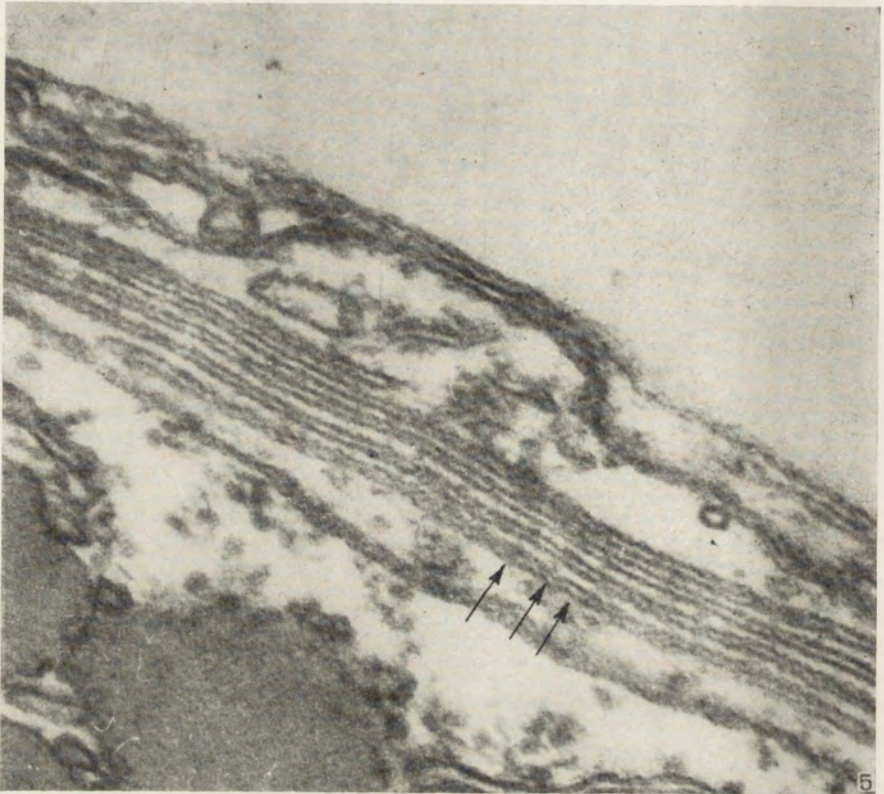
S. A. Burnasheva et al.

autores phot.



S. A. Burnasheva et al.

autores phot.



S. A. Burnasheva et al.

autores phot.



S. A. Burnasheva et al.

autores phot.

Институт медицинской паразитологии и тропической медицины им. Марциновского,
Москва, Г-435, Малая Пироговская 20, СССР

Institute of Medical Parasitology and Tropical Medicine, Moscow, G-435, Malaja Pirogovskaja 20,
USSR

М. М. СОЛОВЬЕВ
M. M. SOLOVJEV

Морфологические и биологические особенности лямблий в связи с обитанием их на щеточной каемке кишечного эпителия

Morphological and biological peculiarities of *Lamblia* in connection with their habitat on the brush border of intestinal epithelium

Представители рода *Lamblia* Blanchard, 1888 паразитирующие у различных рептилий, птиц и млекопитающих обитают в тонком кишечнике хозяина, прикрепляясь к слизистой тонкого кишечника. Эта особенность показана в непосредственных наблюдениях над хорошо изученными видами (Haiba 1953, Hitchcock and Malewitz 1956, Schneider 1961, Шахназарова 1962, Yardley et al., 1964) и ее можно считать характерной и для остальных видов, вследствие значительного морфологического сходства между ними. Лямблии являются билатерально-симметричными организмами с парным набором всех органелл и четким разделением на дорзальную и вентральную поверхности. Вентральная поверхность паразита образует округлое вдавливание, так называемый присасывательный диск, посредством которого и осуществляется прикрепление паразита к субстрату.

Биологическое значение существования лямблий на поверхности слизистой до сих пор изучено явно недостаточно. Вместе с тем, данные в этом направлении могли бы оказаться весьма важными с точки зрения оценки взаимоотношений паразита и хозяина, так как в последние годы показано, что поверхность эпителия тонкого кишечника играет весьма важную роль в физиологии пищеварения. Установлено, что клетки кишечного эпителия покрыты микроворсинками толщиной около 0.1 мк и высотой около 1 мк (Zetterquist 1956), причем они образуют щеточную каемку, которая является зоной особого типа пищеварения, так называемого контактного или мембранного.

В предыдущих сообщениях было показано (Соловьев 1966, Соловьев и Ченцов 1966), что некоторые особенности строения и физиологии лямблий могут определяться обитанием их на щеточной каемке кишечника. Настоящая работа обобщает материал этих сообщений и содержит результаты дальнейших исследований.

Материал и методика

Наблюдения в основном выполнены с *L. muris*, полученными от спонтанно и экспериментально зараженных белых мышей. Часть исследований проведена также на видах *L. duodenalis* и *L. microti*, полученных от спонтанно зараженных кроликов и полевков (*Microtus arvalis*).

Лямблий получали из верхней трети тонкого кишечника животных, где количество их было максимальным. Для гистологического изучения отрезки тонкого кишечника фиксировали в растворе, состоящем из 6 частей формалина, 4 частей 96° спирта, 2 частей концентрированной уксусной кислоты и 6 частей воды (Yardley et al 1964). Парафиновые срезы толщиной 5—7 мк окрашивали гематоксилин-эозином или железным гематоксилином по Гейденгайну.

Для прижизненных наблюдений использовали взвесь лямблий, получаемую скарификацией слизистой кишечника в физиологическом растворе. Для наблюдений над лямблями на поверхности ворсинок каплю такой взвеси помещали на предметное стекло, накрывали покровным и окантовывали вазелином. Для изучения поведений лямблий на поверхности стекла, лямблий из взвеси освобождали дробным центрифугированием (Соловьев 1962), помещали в питательную среду для культивирования (Карапетян 1961) и переносили в инсулиновые флаконы, в каждом из которых находился обрезок покровного стекла размером 18 × 6 мм. После 15—30 мин. инкубации при 37° покровные стекла извлекали из флаконов, монтировали на предметных и окантовывали вазелином.

Прижизненные наблюдения проведены с фазо-контрастным микроскопом. Результаты регистрировали микрофотосъемкой на 35 мм фотопленку или микрокинематографически на 16 мм кинопленку.

Электронномикроскопические наблюдения проведены на материале, фиксированном по Палада и заключенном в бутил-метил метакрилат. Детали методики и аппаратура описаны ранее (Соловьев и Ченцов 1966).

Результаты наблюдений

Распределение лямблий в кишечнике

На срезах кишечника мышей, зараженных *L. muris* большинство лямблий обнаруживалось ниже уровня середины ворсинки. На уровне верхней части ворсинок количество паразитов было обычно меньшим. В части случаев лямблии могли обнаруживаться и в просвете кишечника. В криптах лямблии отсутствовали.

Во всех случаях часть лямблий располагалась свободно между ворсинками. Однако, некоторое количество особей прилегало непосредственно к поверхности ворсинок. При изучении таких особей с максимальными увеличениями микроскопа оказалось, что для части из них прилегание к слизистой было неполным: между паразитом и щеточной каемкой обнаруживался просвет шириной в несколько десятых микрона (Табл. I 5, 6, 7). Некоторые же особи плотно прилегли к щеточной каемке всей поверхностью присасывательного диска, причем даже складывалось впечатление, что какие-то участки по краям его заходят в саму толщу щеточной каемки (Табл. II 8, 9).

Распределение лямблий по срезу подчинялось некоторой закономерности, зависящей от интенсивности инфекции. При малом количестве паразитов на срезе обычно обнаруживалось одно или несколько небольших скоплений лямблий, состоящих из 5—10 особей, прикрепившихся к поверхности слизистой

(Табл. I 1, 2). Остальная часть среза была свободна от лямблий. При среднем количестве лямблий также обнаруживались в виде скоплений, но более обширных. При увеличении количества паразитов в кишечнике их скопления становились все более обширными и лямблии распространялись на ряд соседних ворсинок (Табл. I 3). В случае инфекции максимальной интенсивности пятнистый характер распределения сглаживался и лямблии более или менее равномерно распределялись по всему срезу (Табл. I 4). При этом некоторые особи прилегали к поверхности слизистой, а значительная часть лямблий обнаруживалась в просвете между ворсинками и некоторые из них выходили в просвет кишечника.

Наряду со срезами кишечника мышей были изучены также серии срезов кишечника от трех полевок, две из которых имели сильную, а одна умеренную инфекцию *L. microti*. Пятнистый характер распределения отмечен и для этого вида. Однако, во всех случаях подавляющее большинство особей обнаруживалось в промежутках между ворсинками и лишь единичные прилегали к слизистой (Табл. II 10). При изучении таких особей с максимальными увеличениями микроскопа неизменно обнаруживался просвет между присасывательным диском паразита и щеточной каемкой кишечника (Табл. II 11, 12).

Поведение лямблий на поверхности ворсинок в нативных препаратах

При изучении нативных препаратов из скарифицированной слизистой кишечника мышей, зараженных лямблиями, большая часть паразитов оказывалась свободно перемещающейся в жидкости. Однако, практически в каждом препарате удавалось обнаружить ворсинки с прикрепившимися к ним лямблиями (Табл. II 13). Находки таких ворсинок были особенно частыми у молодых животных с непродолжительной инфекцией (5—7 суток). Количество особей, прикрепившихся к одной ворсинке колебалось от 1—2 до нескольких десятков. Частота обнаружения ворсинок с лямблиями и количество лямблий на них заметно различались у разных животных. Они были обычно максимальными при высоком уровне инфекции. Однако, количество прикрепившихся лямблий по отношению к общему количеству особей в препарате могло быть более высоким у мышей с единичными паразитами.

Наиболее удобными для наблюдения оказались особи, прикрепившиеся к боковой поверхности ворсинки (Табл. II 14, 15). При изучении таких лямблий оказалось, что паразит крепится к слизистой передней частью тела, тогда как хвостовой конец оказывается свободным. Хорошо различается работа центральных жгутов, вызывающих токи жидкости, определяемые по перемещению мелких взвешенных частиц и вибрации свободной части паразита.

Большинство особей *L. muris* в течение всего времени наблюдения (40—60 мин.) оставались фиксированными на одном месте слизистой. Однако, в части случаев удалось наблюдать произвольные перемещения особей на небольшом участке поверхности ворсинки (Табл. III 16).

Аналогичные наблюдения, проведенные с препаратами из кишечника полевок, зараженных *L. microti* также позволили обнаружить особей, прикрепившихся к ворсинкам. Продолжительность пребывания лямблий этого вида на одном месте оказалась невелика: лямблии часто отделялись от ворсинок и, или прикреплялись в другом месте, или переходили в свободное состояние.

Характер работы центральных жгутов лямблии

Наблюдения над биением центральных жгутов проведены на особях прикрепившихся к поверхности стекла для видов *L. muris* и *L. duodenalis*. Харак-

тер биения был одинаковым у всех без исключения особей обоих видов. Передние, боковые и хвостовые жгуты и прикрепившейся особи практически неподвижны и лишь изредка совершают вялые колебательные движения. В противоположность этому, центральные жгуты работают настолько интенсивно, что характер их биения в начале наблюдения удается различить лишь на кадрах кинофильма, снятого со скоростью 32—64 кадра/сек или микрофотографиях, снятых с экспозицией $\frac{1}{100}$ сек. При анализе такого материала обнаружено, что центральные жгуты двигаются синхронно и описывают волнообразную кривую вдоль продольной оси тела (Табл. III 17, 18). В процессе биения жгутов вдоль них от заднего края присасывательного диска по направлению к хвостовой части пробегает волна. Центральные жгуты располагаются в отчетливо различимым у живой особи желобе.

После 30—40 мин. наблюдения темп биения жгутов постепенно снижается. У погибающих особей центральные жгуты двигаются независимо один от другого и бьются хаотично с малой интенсивностью.

Описанный тип биения центральных жгутов оказался характерным для жизнеспособной лямблии во всех случаях. Он прослеживался для особей на поверхности слизистой и для свободно плавающих лямблий.

Особенности ультраструктуры *L. muris*

В настоящем сообщении будут разобраны только морфологические детали строения паразита, имеющие отношение к обитанию его на поверхности слизистой. Морфология *L. muris* в целом описана нами ранее (Соловьев и Ченцов 1966).

На полученных срезах, к сожалению, отсутствовали лямблии, прикрепившиеся к щеточной каемке, что, по видимому, связано с отсоединением их от слизистой в момент фиксации. Однако, некоторые детали строения паразита позволяют косвенно судить о связи его с поверхностью эпителиального слоя слизистой кишечника.

Наиболее сложно устроена вентральная поверхность паразита. Присасывательный диск *L. muris* покрыт двумя слоями плотной кутикулы — дисковидным центральным и подковообразным периферическим, окружающим центральный пласт и заходящим на нижнюю поверхность хвостовой части паразита. Края обоих пластов отогнуты вниз, образуя заостренные выступы длиной около 0.3 мк (Табл. IV 19). Организация присасывательного диска позволяет предполагать, что прикрепление лямблии к ворсинкам осуществляется посредством захвата микроворсинок щеточной каемки выступами кутикулы.

Вентральная поверхность хвостовой части паразита образует резервуар центральных жгутов. Этот резервуар состоит из воронки, начинающейся в задней трети присасывательного диска и переходящей в расширяющийся желоб, ограниченный по краям выростами периферической кутикулы. Сами центральные жгуты в области воронки и передней части желоба округлы в сечении (Табл. IV 20). На срезах, прошедших через середину желоба, вдоль каждого из этих жгутов обнаруживается продольный гребень, благодаря которому жгуты приобретают лентовидную форму (Табл. IV 19, 21).

Три остальных пары жгутов в той или иной степени связаны с описанными структурами вентральной поверхности. Внутрицитоплазматические части передних жгутов огибают с боков переднюю часть присасывательного диска, находясь в непосредственной связи с периферической кутикулой (Табл. IV 19). Аксонемы боковых и хвостовых жгутов идут общим пучком с аксонемами центральных

вдоль продольной оси тела вплоть до начала резервуара центральных жгутов. После выхода центральных жгутов в полость воронки пучек распадается. Аксонемы боковых жгутов расходятся в стороны и огибают с боков резервуар центральных жгутов, тогда как аксонемы хвостовых жгутов образуют дорзальную поверхность этого резервуара (Табл. IV 20, 21).

В отличие от вентральной поверхности остальная часть лямблии представляет мало дифференцированный цитоплазматический мешок, одетый элементарной мембраной, под которой располагаются одетые такой же мембраной вакуоли возможно пиноцитарной природы (Табл. IV 19)¹.

Обсуждение результатов

Изучение гистологических препаратов кишечника животных с лямблиями, показавшее пятнистый характер распределения особей, позволяет сделать некоторые предложения о типе роста популяции лямблий. Заселение лямблиями кишечника начинается, повидимому, с образования небольших колоний на части ворсинок. Размножение особей в таких колониях приводит к расширению их на соседние ворсинки. Дальнейшее увеличение популяции ведет к слиянию колоний и гомогенному распределению лямблий по всей поверхности слизистой.

Интересно отметить, что подобный тип роста популяции отмечен нами ранее и в культурах *L. duodenalis* (Соловьев 1962) и объясняется, повидимому, особенностями деления лямблий. В культуре *L. duodenalis* было показано (Соловьев 1963), что деление паразита происходит на поверхности субстрата и дочерные особи отделяются от него только на последних стадиях деления и вновь прикрепляются в непосредственной близости друг от друга. Деление паразита очевидно происходит сходным образом и *in vivo*, на что указывают как находки делящихся лямблий на поверхности слизистой, (Табл. I 7), так и часто наблюдаемые попарно расположенные паразиты (Табл. I 6).

Популяция лямблий в кишечнике состоит из особей, прикрепившихся к слизистой, и свободно располагающихся в промежутках между ворсинками или даже в просвете кишечника. Доля особей, прикрепившихся к ворсинкам, была обычно высока при низком уровне инфекции, тогда как при массивной инфекции значительное количество лямблий располагалось свободно. Очевидно, что вынос лямблий из кишечника вследствие перистальтики должен быть наиболее существенен для свободно плавающих особей, в связи с чем возможно предположение, что обычно наблюдаемое в опытах сокращение количества лямблий после периода их массового размножения, может определяться отсоединением особей от ворсинок.

Механизм прикрепления лямблий к клеткам эпителия недостаточно ясен. Долгое время предполагалось, что он обеспечивается пониженным давлением, создаваемым в полости присасывательного диска, отражением чего является и само название „присасывательный диск”. Карапетян 1964 в культурах *L. intestinalis* и *L. duodenalis* впервые наблюдал волнообразное биение центральных жгутов и предположил, что работа их обеспечивает постоянное откачивание жидкости из полости присасывательного диска, следствием чего и является удержание лямблии на субстрате. Покадровый анализ кинофильмов лямблий,

¹ После отправки настоящего сообщения в редакцию журнала в печати появилась статья (D. E. Bockaman, W. B. Winborn 1968: Electronmicroscopic localization of exogenous ferritin within vacuoles of *Giardia muris*. J. Protozool., 15, 26—30), в которой пиноцитарная природа указанных вакуолей подтверждена электронмикроскопически с применением ферритина.

прикрепившихся к поверхности стекла подтверждает предположение Карапетяна, что при работе центральных жгутов жидкость должна откачиваться из полости диска. Однако, крайне сомнительно, чтобы такое откачивание могло обеспечить прикрепление лямблии в кишечнике, где субстратом является щетка из микроворсинок. Этому противоречит также и способность лямблии к произвольному отсоединению от поверхности ворсинок без снижения интенсивности биения центральных жгутов.

Решение вопроса лежит, по видимому, в особенностях ультраструктуры вентральной поверхности паразита, покрытой плотной кутикулой. Такая кутикула обнаружена у всех изученных видов: *L. duodenalis* (Cheissin 1964, 1965), *L. intestinalis* (Takano and Yardley 1965, Morecki and Parker 1967) и *L. muris* (Соловьев и Ченцов 1966, Friend 1966). Отогнутые вниз края кутикулы, по видимому, заходят в щеточную каемку и удерживают лямблию на ее поверхности. В пользу такого предположения говорят наши данные изучения *L. muris* в световом микроскопе (Табл. II 8, 9) и непосредственное наблюдение Takano and Yardley 1965, опубликовавших электронную микрофотографию *L. intestinalis* с выступами кутикулы в промежутках между микроворсинками щеточной каемки. Интересно отметить, что в отличие от *L. muris*, имеющей два самостоятельных пласта кутикулы и соответственно два параллельно идущих выступа, у *L. intestinalis* и *L. duodenalis* имеется только центральный пласт. По видимому такую же организацию имеет и сходная морфологически с последними видами *L. microti* и этим, возможно определяется меньшая по сравнению с *L. muris* прочность прикрепления этого вида к слизистой, что было отмечено в наших наблюдениях. Однако, этот вопрос не может быть решен на основании только морфологических различий видов лямблий, вследствие различий щеточной каемки у млекопитающих — хозяев лямблий. Так Ito 1956 описал особый войлокообразный слой, покрывающий щеточную каемку. По его данным этот слой хорошо развит у кошки, летучей мыши и человека и плохо выражен у мыши, крысы и собаки.

Прижизненные наблюдения над лямблиями на ворсинках указывают на существование какого-то механизма, обеспечивающего произвольные отсоединения и прикрепления лямблий к поверхности ворсинок. При изучении различий в ультраструктуре лямблий, прикрепившихся к поверхности стекла и свободно

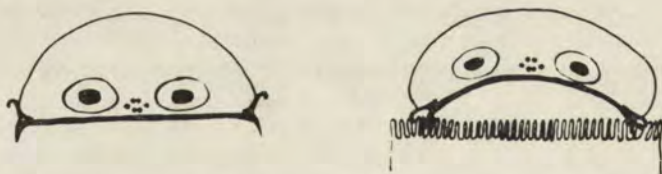


Рис. 1. Схема предполагаемого механизма прикрепления *L. muris* к щеточной каемке кишечника мыши

Fig. 1. Scheme of probable attachment mechanism of *L. muris* to the brush border of the intestine of mouse

плавающих, нами (Соловьев и Ченцов 1966) было высказано предположение, что такой механизм может быть связан с прогибанием кутикулы паразита (Рис. 1). Вопрос о правомерности этого предположения должен быть решен в дальнейших исследованиях.

Биение центральных жгутов у лямблии, прикрепившейся к слизистой ки-

щечника, должно приводить к откачиванию жидкости из толщи щеточной каемки. Непрерывность работы центральных жгутов на протяжении всей жизни лямблии, а также сложность организации их аппарата позволяют думать, что они играют существенную роль в жизнедеятельности паразита.

Согласно накопившимся к настоящему времени данным, щеточная каемка является весьма важным компонентом слизистой кишечника. В изолированных препаратах щеточной каемки показана биохимически активность ряда ферментов (Miller and Crane 1961). Основываясь на ряде прямых и косвенных данных Уголев 1963, 1965, 1967 смог установить, что наряду с полостным типом пищеварения существует мембранное (синонимы: контактное и пристеночное), проходящее в толще щеточной каемки за счет ферментов, адсорбированных на мембранах микроворсинок и обеспечивающее окончательный гидролиз пищевых веществ, начатый в полости кишечника. Наиболее ценные в пищевом отношении конечные продукты гидролиза образуются именно в толще щеточной каемки, причем плотность упаковки микроворсинок препятствует расхищению этих продуктов бактериями, обитающими в кишечнике.

В противоположность им, лямблии посредством работы центральных жгутов способны откачивать жидкость из промежутков между микроворсинками и тем самым вмешиваться в процесс мембранного пищеварения. Интересно, что возможно отметить некоторый параллелизм между интенсивностью контактного пищеварения и распространением лямблий у хозяина. Так, согласно Уголеву, мембранное пищеварение особенно выражено в верхней части тонкого кишечника, то есть в зоне максимального размножения лямблий (Винников 1949, Schneider 1961, Hitchcock and Malewitz 1956). Интенсивность мембранного пищеварения снижается с возрастом, что можно поставить в связь с широко известным фактом более частого обнаружения *L. intestinalis* у детей по сравнению со взрослыми, а также данными о преобладании других видов лямблий у молодых животных (Schneider 1961, Bemrick 1961, Iwan-czuk 1966).

Изложенные данные позволяют считать, что лямблии являются узко специализированными паразитами, приспособленными к обитанию на поверхности щеточной каемки и использованию биохимических процессов, проходящих в ее толще. В связи с этим представляется мало вероятным, чтобы какие-либо иные органы оказались столь же благоприятными для лямблий. Имеются отдельные сообщения о находках лямблий в желчном пузыре человека (Володин 1931, Calder, Rigdon 1935, Chenu 1955 и др.) и в тканях кишечника мыши и человека (Дехкан-Ходжаева 1960, Morecki and Parker 1967, Brandborg et al 1967). Учитывая, однако, редкость, таких наблюдений и отсутствие доказательств размножения лямблий следует считать эти условия ненормальными для лямблий.

Резюме

На гистологических препаратах кишечника мышей и полевок показано, что заселение лямблиями кишечника начинается с образования небольших колоний особей, прикрепившихся к слизистой. При росте популяции увеличиваются размеры колоний и возрастает доля особей, отсоединившихся от ворсинок. На нативных препаратах из кишечника удалось наблюдать лямблий, прикрепившихся к ворсинкам. Часть из них долго удерживалась на одном месте, а другие перемещались по поверхности слизистой.

У лямблии, прикрепившейся к субстрату активно бьются центральные жгуты, работа которых приводит к откачиванию жидкости из-под вентральной поверхности паразита. Изучение ультраструктуры *L. muris* позволяет предполагать, что прикрепление паразита к ворсинкам обеспечивается выступами кутикулы, заходящими в промежутки между микроворсинками щеточной каемки слизистой.

Щеточная каемка является зоной мембранного пищеварения (Ugolev 1965) и полученные данные позволяют считать лямблию паразитом, узко специализированным к обитанию на щеточной каемке и использованию продуктов мембранного пищеварения.

SUMMARY

Examination of histological sections of intestine of the mouse and field-vole has revealed that the infection of the intestine by lamblia starts with a formation of some small aggregations of individuals attached to the mucous membrane. The growth of populations is accompanied by the enlargement of aggregations and a portion of individuals detached from the villi increase. On fresh smears of intestine, lamblias attached to the villi are easily seen. Some of them remain on the same place for a long time, while the other move on the surface of the mucous membrane.

The detached lamblia reveal actively beating central flagella which activity results in removing the liquid out of the ventral surface of the parasite. The study of the fine structure of *L. muris* suggests that the attachment of the parasite to intestinal villi may be due to the marginal lips of pelicle of the sucking disc stretched towards the space between the microvilli of the brush border. The brush border is a zone of membranous digestion (Ugolev, 1965) and the data obtained permit to consider lamblias as specialized parasites strictly confined to inhabit on the surface of the brush border and to utilize the products of membranous digestion.

ЛИТЕРАТУРА

- Bemrick W. J. 1961: A note on the incidence of three species of *Giardia* in Minnesota. *J. Parasit.*, 47, 87—89.
- Brandborg L. L., Tankersley C. B., Gottlieb S., Barancik M., Sartor V. E. 1967: Histological demonstration of mucosal invasion of *Giardia lamblia* in man. *Gastroenterology*, 52, 143—150.
- Calder R. M. and Rigdon R. H. 1935; *Giardia* infestation of gall bladder and intestinal tract. *Am. J. Med. Sci.*, 190, 82—88.
- Cheissin E. M. 1964: Ultrastructure of *Lamblia duodenalis*. 1. Body surface, sucking disc and median bodies. *J. Protozool.*, 11, 91—98.
- Cheissin E. M. 1965: Ultrastructure of *Lamblia duodenalis*. 2. The locomotory apparatus, axial rod and other organelles. *Arch. Protistenk.* 108, 8—18.
- Chenau U. A. 1955: Presencia de *Giardia lamblia* en la vesicula biliar. *Sem. méd.*, 107, 149—154.
- Дехкан-Ходжаева Н. А. 1960: К вопросу о способности лямблий проникать в ткани. *Мед. паразит.*, 29, 226—228.
- Friend S. D. 1966: The fine structure of *Giardia muris*. *J. cell. Biol.*, 29, 317—332.
- Haiba M. N. 1953: Studies on the morphology and biology of *Giardia*. Cairo.
- Hitchcock D. J. and Malewitz T. D. 1956: Habitat of *Giardia* in the kitten. *J. Parasit.*, 42, 286.
- Ito S. 1965: The enteric surface coat on cat intestinal microvilli. *J. cell. Biol.*, 27, 475—491.
- Iwanczuk I. 1965: Studies on the course of infection with *Lamblia muris* Bensen, 1908 in albino mice. *Acta parasit. pol.*, 13, 227—258.

- Карапетян А. Е. 1961: Методика получения культуры *Lamblia duodenalis*. Мед. паразит., 30, 691—694.
- Карапетян А. Е. 1964: Изучение биологии лямблий при помощи культурального метода исследования. Автореферат диссерт. Ростов на Дону.
- Miller D. and Crane R. K. 1961: The digestive function of the epithelium of the small intestine. 2. Localization of disaccharide hydrolysis in the isolated brush border portion of intestinal epithelial cells. Biochim. biophys. Acta, 52, 293—298.
- Morecki R. and Parker J. G. 1967: Ultrastructural studies of the human *Giardia lamblia* and subjacent jejunal mucosa in a subject with steatorrhea. Gastroenterology, 52, 151—164.
- Schneider C. C. 1961: Infektionversuche mit *Lamblia muris*. Z. Tropenmed. Parasit., 12, 276—300, 368—385.
- Шахназарова И. Э. 1962: Морфологическое изучение стенки кишечника мышей, зараженных *Lamblia muris*. Мед. паразит., 31, 694—697.
- Соловьев М. М. 1962: К методике культивирования лямблий. Мед. паразит., 31, 744—745.
- Соловьев М. М. 1963: Изучение процесса деления *Lamblia duodenalis* в культуре. Мед. паразит., 32, 96—101.
- Соловьев М. М. 1966: К вопросу о биологическом назначении центральных жгутов лямблий. Мед. паразит., 35, 91—93.
- Соловьев М. М. и Ченцов Ю. С. 1966: Электронномикроскопическое изучение *Lamblia muris* в связи с особенностями экологии паразита. Мед. паразит., 35, 667—672.
- Takano J. and Yardley J. H. 1965: Jejunal lesions in patients with giardiasis and malabsorption. An electron microscopic study. Bull. John Hopkins Hosp., 116, 413—429.
- Володин А. Н. 1931: К симптоматологии и клинике заболеваний печени и желчных путей при лямблиозной инфекции. Сов. Клиника, 1, 18—29.
- Винников М. Е. 1949: Лямблиоз. Сов. Мед., 12, 18—20.
- Уголев А. М. 1963: Пристеночное (контактное) пищеварение. Ленинград.
- (Уголев А. М.) Ugolev A. M. 1965: Membrane (contact) digestion. Physiol. Rev., 45, 555—595.
- Уголев А. М. 1967: Физиология и патология пристеночного (контактного) пищеварения. Ленинград.
- Yardley J. H. Takano J. Hendrich T. R. 1964: Epithelial and other mucosal lesions of the jejunum in giardiasis. Jejunal biopsy studies. Bull. John Hopkins Hosp., 115, 389—406.
- Zetterquist H. 1956: The ultrastructural organisation of the columnar absorbing cells of the mouse jejunum. Stockholm.

ПОДПИСИ К ТАБЛИЦАМ I—IV

Микрофотографии гистологических препаратов кишечника мышей, зараженных *L. muris*. Окраска железным гематоксилином

1, 2: Небольшие скопления лямблий на поверхности слизистой кишечника при невысоком уровне инфекции. 800 ×

3: Обширное скопление лямблий на ворсинках мыши с высоким уровнем инфекции. 300 ×

4: Многочисленные лямблии в промежутках между ворсинками и в просвете кишки. 700 ×

5, 6, 7: Отдельные лямблии на поверхности щеточной каемки. 1900 ×. Особь на рис. 7 находится в стадии деления, на что указывают два ядра малого диаметра, расположенные в сагиттальной плоскости паразита

8, 9: Отдельные особи *L. muris* плотно прилегающие к щеточной каемке. В передней части каждой лямблии различается темное образование, заходящее в толщу щеточной каемки. 3000 ×

10: Срез кишечника полевки. Многочисленные *L. microti* в промежутках между ворсинками и на слизистой. 700 ×

11, 12: Отдельные особи *L. microti* на поверхности щеточной кишечника. 2000 ×
1—12 — Окраска железным гематоксилином

Нативные препараты из скарифицированной слизистой кишечника мышей, зараженных *L. muris*. Фазовый контраст

13: Поверхность ворсинки с прикрепившимися к ней лямблиями. 500 ×

14, 15: Отдельные особи *L. muris* на поверхности слизистой. 1500 ×

16 A—D: Перемещение особи *L. muris* на поверхности ворсинки. Нативный препарат из кишечника мыши. Кадры из кинофильма. Фазовый контраст. 1000 ×

17 A—D: *L. muris* на поверхности стекла. Различается характер биения центральных жгутов. Последовательные кадры из кинофильма (64 кадра/сек). Фазовый контраст. 3000 ×

18 A—D: *L. duodenalis* на поверхности стекла. Последовательные кадры из кинофильма (24 кадра/сек). Фазовый контраст. 2500 ×

Электронномикроскопические фотографии срезов *L. muris* из кишечника мыши

19: Продольный срез особи над поверхностью щеточной каемки. Видны центральная и периферическая кутикулы с отогнутыми вниз выступами

20: Поперечный срез, прошедший вблизи выхода центральных жгутов. Хорошо различается резервуар центральных жгутов и сами центральные жгуты, округлые в сечении

21: Косой продольный срез, прошедший через заднюю часть лямблии. Видны лежащие близко друг от друга центральные жгуты, каждый из которых имеет продольный гребень.

Обозначения: *lf* — боковые жгуты (аксонемы), *cf* — хвостовые жгуты (аксонемы), *vf* — центральные жгуты, *tr* — периферическая кутикула, *cr* — центральная кутикула (присоски), *n* — ядро, *v* — вакуоли, *bb* — щеточная каемка.

EXPLANATION OF PLATES I—IV

Section of the intestine of mouse infected with *L. muris*, stained with iron haematoxylin

1, 2: Small groups of lamblias on the surface of intestinal mucosa at low level of infection. Magn. 800 ×

3: Large aggregation of lamblias on intestinal villi of the mouse at high level of infection. Magn. 300 ×

4: Numerous lamblias in the spaces between the intestinal villi and in the lumen of the intestine. Magn. 700 ×

5, 6, 7: Single lamblias on the surface of the brush border. Magn. 700 ×. The specimen in Fig. 7 in a stage of division: two small nuclei are seen in the sagittal surface of the parasite. 8, 9: Single specimens of *L. muris* closely adhering to the brush border of the intestine. In the anterior part of each parasite a dark structure is seen, entering the brush border. Magn. 3000 ×.

10: Section of the intestine of vole. Numerous *L. microti* in the spaces between intestinal villi and on mucosa. Magn. 700 ×

11, 12: Single specimens of *L. microti* on the surface of the brush border. Magn. 2000 ×

Native preparations from scarificated mucosa of the intestine of mouse infected with *L. muris*, phase contrast

13: Lamblia attached to the surface of intestinal villus. Magn. 500 ×

14, 15: Single specimens of lamblia from the surface of mucosa. Magn. 1500 ×

16 A—D: Displacement of the specimen of *L. muris* on the surface of intestinal villus. Fresh preparation from the intestine of mouse, camera's images, phase contrast. Magn. 1000 ×

17 A—D: *L. muris* on the surface of glass. The character of motion of ventral flagellae are seen. Successive camera's images (64 images/sek), phase contrast. Magn. 3000 ×

18 A—D: *L. duodenalis* on the surface of glass. Successive camera's images (24 images/sek), phase contrast. Magn. 2500 ×

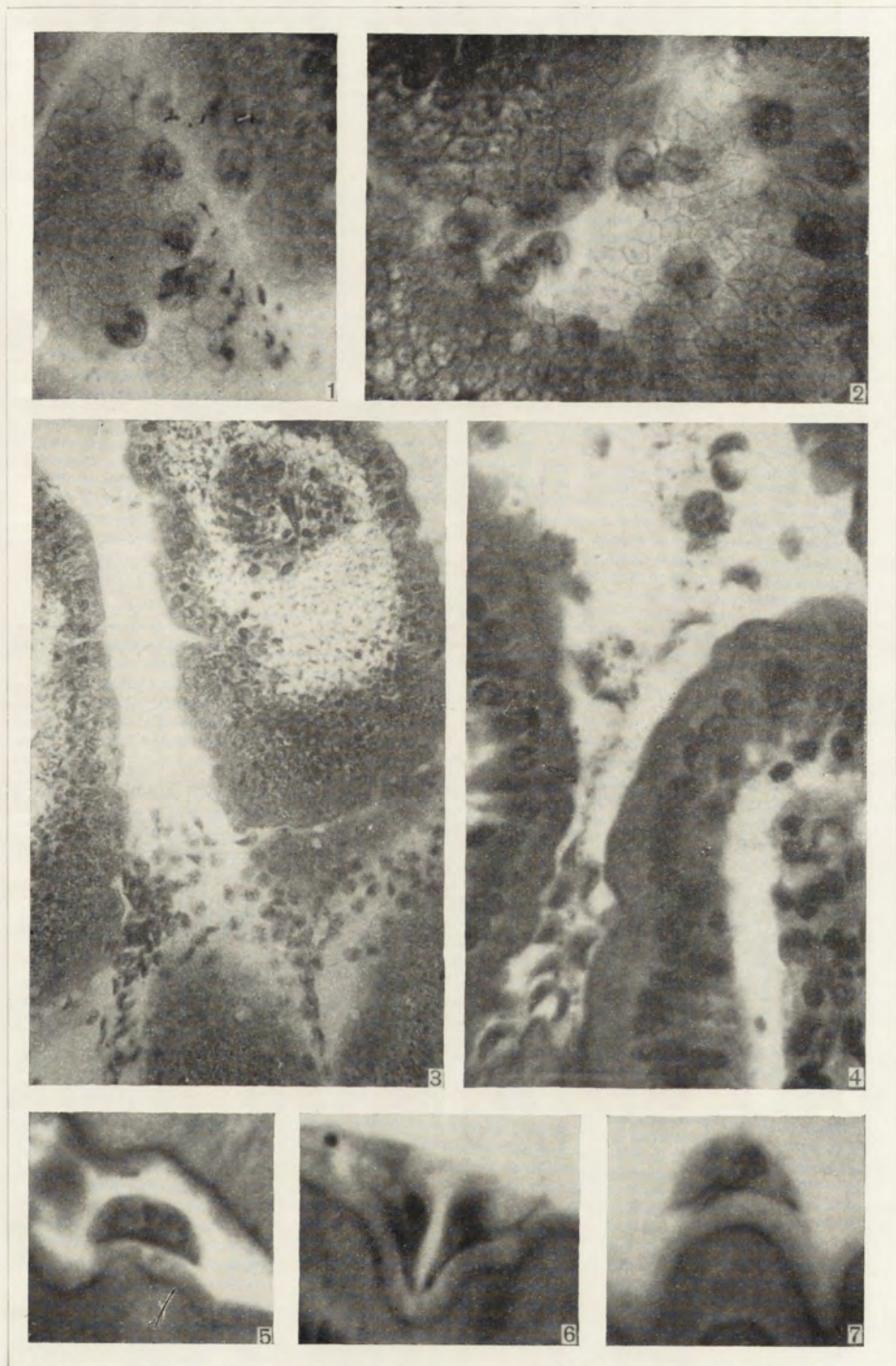
Electron micrographs of the sections of *L. muris* from the intestine of mouse

19: Longitudinal section of lamblia above the brush border. Central and peripheral pellicle of sucking disc, with the processes stretched down, are seen

20: Transversal section close to the point where ventral flagellae leave the body. Reservoir and ventral flagellae, round in cross-section, are well visible

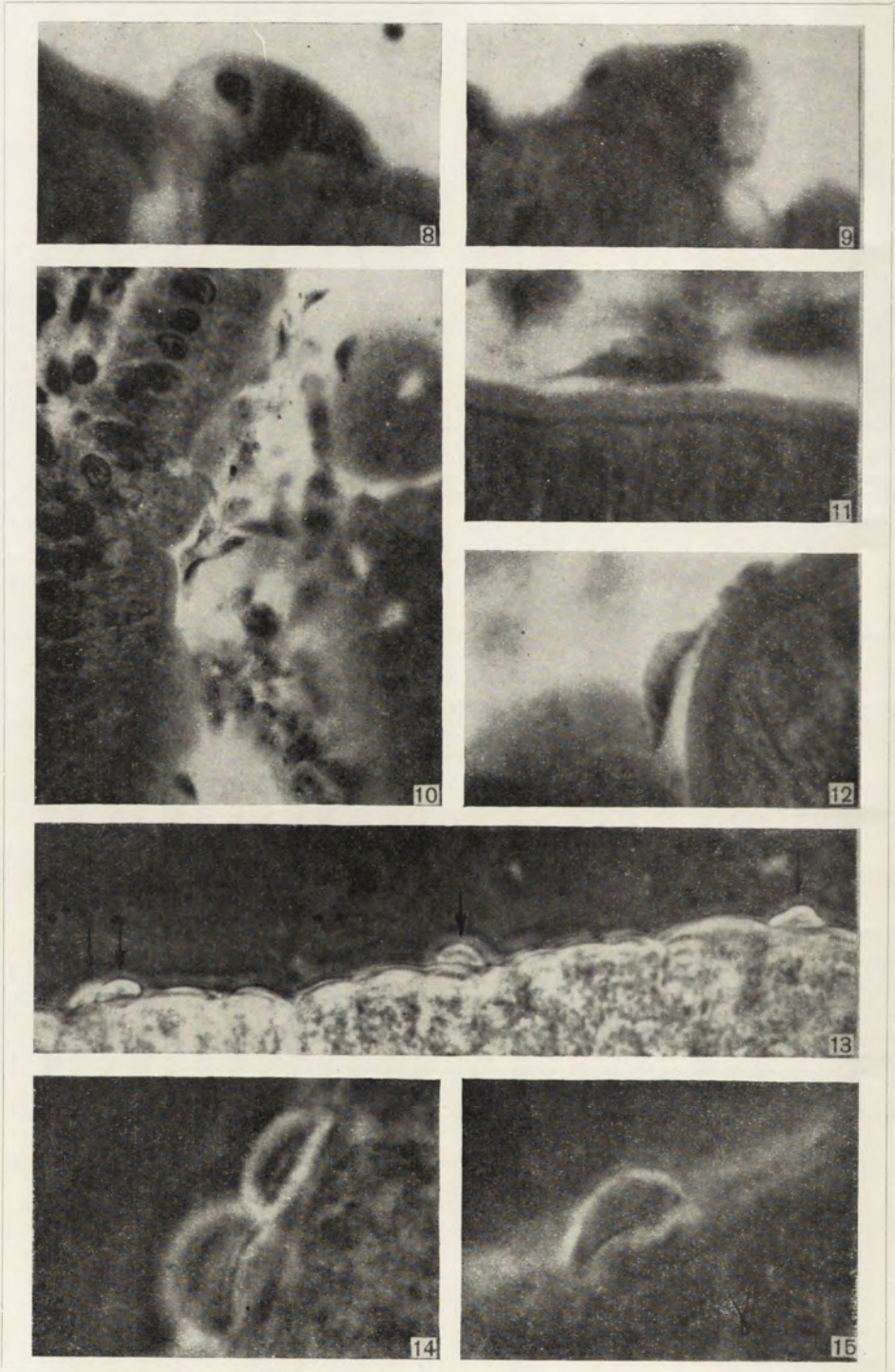
21: Oblique longitudinal section through the posterior part of lamblia body. Ventral flagellae, lying close together, are visible, each of them with longitudinal ridge.

Designations: *lf* — axoneme of lateral flagella, *cf* — axoneme of caudal flagella, *mp* — marginal pellicle, *cp* — central pellicle of sucking disc, *n* — nucleus, *v* — vacuoles, *bb* — brush border



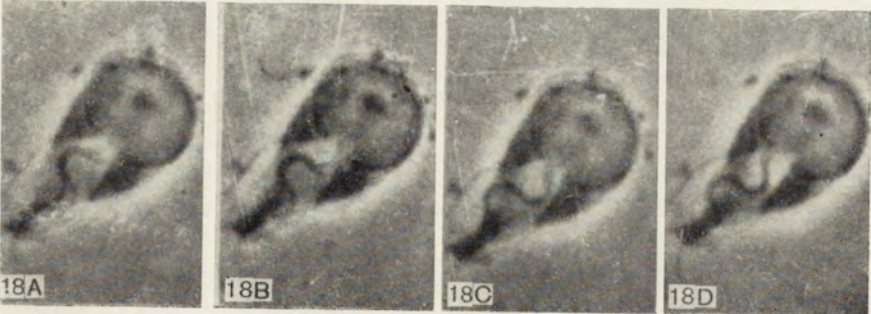
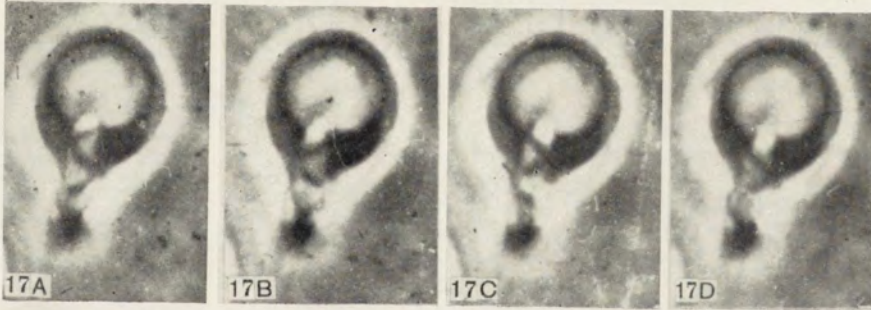
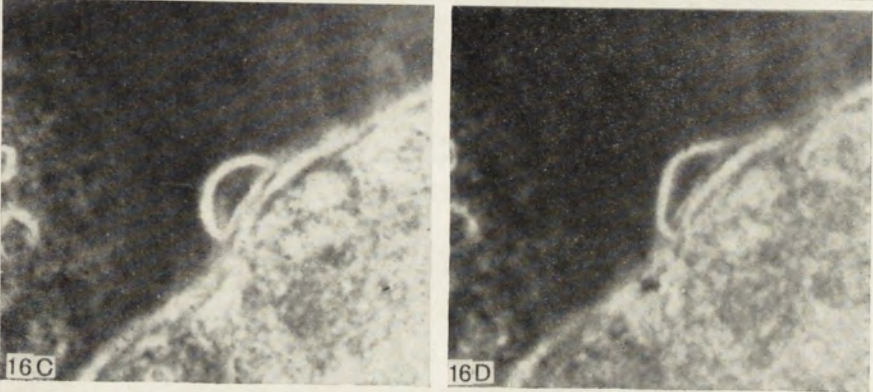
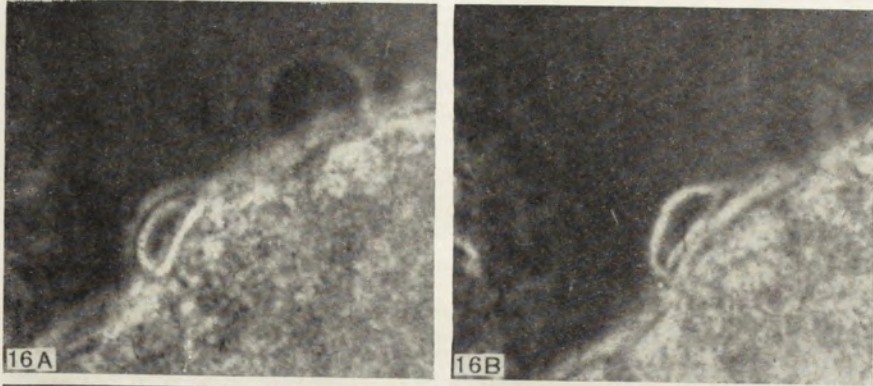
М. М. Соловьев

auctor phot.



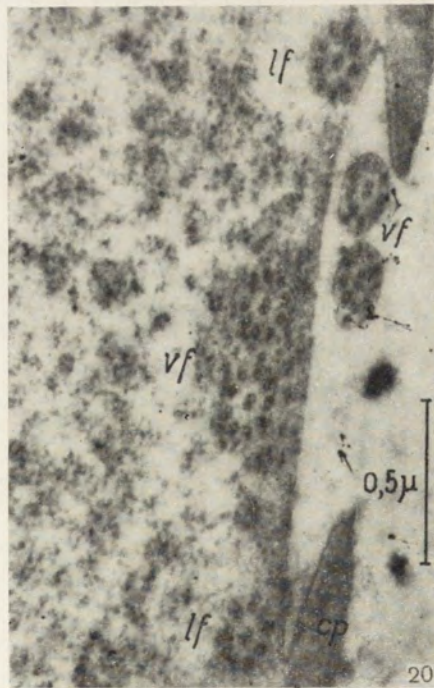
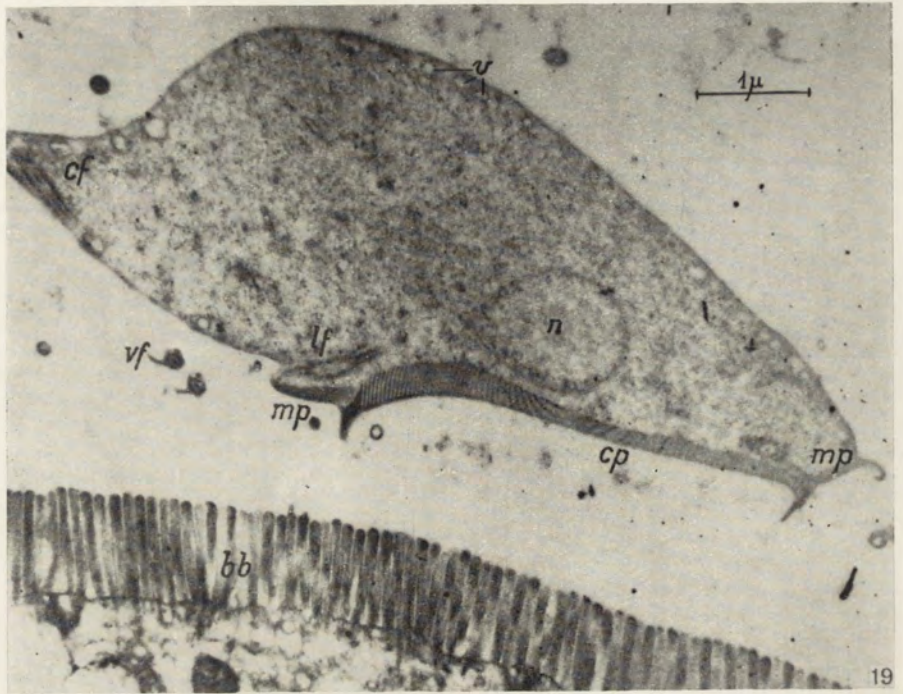
М. М. Соловьев

auctor phot.



М. М. Соловьев

auctor phot.



М. М. Соловьев

auctor phot.

Institute of Cytology, Academy of Sciences of the USSR, Leningrad F-121, Prospekt
Maklina 32, USSR

T. V. BEYER

On the size of haemogregarines from diploid and triploid hosts, the Armenian rock lizards

О размерах гемогрегариин скальных ящериц Армении
из диплоидного и триплоидного хозяина

Out of the many aspects of parasitology, that of host-parasite size relationship has been given little attention. It is generally accepted that larger parasites live in larger hosts. Thus, among parasitic arthropods the larger species, within one genus, were found in larger hosts (Noble and Noble 1964). In some monogeneans of the genus *Dactylogyrus* the dimensions of the attachment elements may vary up to 20% depending on host age (Gläser 1965, Gussev 1966). It must be stressed that however the elements of the attachment organ are known to be rather stable taxonomic character.

As to parasitic protozoa, data on host-parasite size relationship or, more strictly speaking, on the size correlation between the host cell and the parasite inside it, are not numerous. Cheissin 1967 reported an interesting regularity in the life cycles of coccidians: the dimensions of schizont are limited by the size of the surrounding space. The schizonts of *Cryptosporidium*, *Eimeria anguilla* and other coccidia developing on the surface of epithelial cells of intestine, have the least dimensions (5—8 μ). On the other hand, sub-epithelial localization of the schizonts may lead sometimes to the formation of giant parasites (schizonts), over 100 μ in diameter (*E. cameli*, *E. bovis*).

No wonder, therefore, that haemoparasites found in the triploid hybrids of the rock lizards evoked our curiosity. As was recently shown (Darevskiy Krasilnikov 1965), erythrocytes of these hybrids are on the average one third larger than those of diploid forms. Therefore, a certain enlargement of the parasites developing in bigger cells of triploid host would be expected. For this purpose, dimensions of parasites taken from diploid and triploid hosts were compared. The data obtained are given in this paper.

Material and methods

The material was collected in the Sevan Lake and Stepanavan district in Armenia, 1967, and consisted mainly of thin blood films. The determination of the host followed Darevskiy 1967.

Two specimens of triploid hybrids and a number of diploid animals of the rock lizards were at our disposal. The first resulted from mating between

parthenogenetic females of *Lacerta armeniaca* Mähely, 1909 and males of a bisexual form *Lacerta saxicola portschinskii* Kessler, 1878. As diploid lizards, two species were chosen: *L. armeniaca* which was the maternal form of the triploid hybrids under investigation, and *L. s. nairensis* Darevsky, 1967, a species heavily infected with haemogregarines. For parasitological purpose, two forms of haemogregarines III and IV were chosen described previously from *L. s. nairensis* (Beyer 1968).

Table 1
Dimensions of red blood cells of rock lizards (μ)

Lizard	Dimensions of erythrocyte bodies	Dimensions of erythrocyte nuclei
<i>L. armeniaca</i>	$14.12 \pm 0.15 \times 8.58 \pm 0.08$	$6.34 \pm 0.08 \times 3.72 \pm 0.05$
<i>L. s. nairensis</i>	$13.80 \pm 0.14 \times 9.34 \pm 0.12$	$6.06 \pm 0.10 \times 4.14 \pm 0.10$
Triploid hybrid	$18.17 \pm 0.19 \times 10.20 \pm 0.12$	$8.00 \pm 0.15 \times 4.33 \pm 0.05$



Fig. 1. Noninfected (A—C) and infected erythrocytes by haemogregarines from III (D—F), and form IV (G—I). A, D and G—erythrocytes from triploid hybrids, B, E and H— from *L. armeniaca* and C, F and I— *L. s. nairensis*

Thin blood films of lizards were dried in air, fixed in methyl alcohol and stained after Giemsa-Romanovsky. The dimensions of parasites and those of host red blood cells were treated statistically. The results are summarized in Table 1.

Results

Infected and non-infected red blood cells of lizards are demonstrated in Fig. 1 A—I.

The form III of the parasite (Fig. 1 D—F) strongly affects the host cells: these become rather enlarged, far over of the requirement of the parasite in space. The cell envelope becomes very thin so that the outline of these cells is hardly seen. The red cell nucleus becomes stretched, sometimes even fragmented and displaced to one side of the erythrocyte. Elongated transparent parasites are most frequently surrounded with a colourless capsule closely adjoining to the host cell nucleus.

The changes, occurring in the infected erythrocytes, are essentially, similar in both diploid and triploid hosts.

Quite different pictures of host-parasite relationships are seen in the case of the form IV of the parasite (Fig. 1 G—I). Unlike the above case, the infected erythrocytes are never enlarged; sometimes they look even a bit smaller. The nucleus of the host cell is not elongated either. It looks more solid and compact. The body of the parasite is covered with a distinct capsule which frequently highly absorbs the red staining thus screening the intimate morphological details of the parasite.

A comparison of size characteristics of the two forms of haemogregarines from diploid and triploid lizard hosts revealed no differences within each form irrespective of dimensions of the cells they live in (Table 2).

Table 2
Dimensions of two haemogregarine forms from different hosts (μ)

Host	Form III	Form IV
<i>L. armeniaca</i>	$12.90 \pm 0.15 \times 4.50 \pm 0.28$	$12.55 \pm 0.14 \times 5.88 \pm 0.07$
<i>L. s. nairensis</i>	$12.01 \pm 0.11 \times 4.31 \pm 0.09$	$12.85 \pm 0.17 \times 5.72 \pm 0.10$
Triploid hybrid	$11.92 \pm 0.09 \times 3.99 \pm 0.07$	$12.64 \pm 0.13 \times 5.76 \pm 0.14$

Discussion

The present study has shown that the dimensions of parasites, within either form examined, remain stable no matter where the parasite lives: in a smaller red blood cell of the diploid host or in a larger one of the triploid.

The dimensions of intracellular parasites may be limited by those of their hosts' cells. In the recent monography of Cheissin 1967, some facts are available supporting this idea. Epithelial cells of the rabbit intestine, when parasitized by the *Eimeria intestinalis* schizonts, may sometimes be strongly

deformed as compared to those in unchanged cells. According to Cheissin, the second generation schizonts of *E. intestinalis* are therefore bigger than those of the first generation. Ovesmukhamedov 1968 reported for reptilian haemogregarines they looked as if the host cell limits were too narrow to them. The enlargement of the host cell follows along the axis of the parasite body and appears to be due to the mechanical effect of stretching the host cell envelope by the parasite.

The erythrocytes of triploid hybrids of rock lizards are considerably enlarged, they are at least one third larger than corresponding cells of diploid lizards. These cells could be expected to give a possibility for parasites inside them to become much bigger. However, we never observed any enlargement of the parasite in these conditions.

A question arises: Why does the parasite make no use of such a greater "living space" it finds within the larger host cells? To answer this question, some suggestions may be put forward.

It is very likely that both the forms of parasite examined are gamonts. This statement is based on the fact that we have never observed either growth or segmentation of the parasite. Stages of the asexual cycle — schizonts and merozoites (trophozoites) — have some very peculiar features: a vacuolated cytoplasm, the central position of the nucleus, well pronounced growing tendencies, etc., which make them easily distinguishable from the forms in question having quite different morphology. Besides, we did not observe growing gamonts; the fluctuations in size of the parasites did not exceed 1—1.5 μ . It does not seem unlikely that after developing of trophozoites into gamonts, the latter stop growing any more. In this case, the very size of the host cell seems of no importance for the non-growing parasite.

The stability of the size in gamonts from the triploid host inevitably suggests that no enlargement of any preceding stage of the life cycle (merozoites, for example) should occur in the same host. Dimensions of different developmental stages of the parasite are characteristic of each species and hereditary stable. (In this case, studies of nuclear events occurring at the corresponding stages are desirable).

The stability of the size characteristics of gamonts of haemogregarines and, as it may be supposed, other developmental stages, may be attributed to the fact that the appearance of hybrids resulting from natural crossing of rock lizards never exceeds 5—8% of the mixed population (Darevsky 1966). This may suggest that the microenvironment offered by the triploid host could not change morphology of the parasite which more than in 90% cases lives in conditions of the diploid host body.

Acknowledgements: The author thanks Dr. I. S. Darevsky (Zoological Institute of the Academy of Sciences of the USSR, Leningrad) and Dr. F. D. Danieljan (State University of Erevan) for their help with catching the material and identification of the reptiles.

Summary

Dimensions of gamonts belonging to two different forms of haemogregarines from diploid and triploid hosts, the Armenian rock-lizards, were compared, erythrocytes of the latter exceeding those of the former by at least one

third. A comparative study revealed a size stability within either form of haemogregarines irrespective of the host they were taken from. This may appear as the result of the hereditary stability of gamonts that are likely to undergo no growing within the host cells. On the other hand, due to the fact that the triploid hosts never exceed 5—8 per cent in the natural lizard population, a suggestion is made that the parasites living in such an environment could hardly change in comparison with those from the diploid host cells.

РЕЗЮМЕ

Проведено сравнение размеров гамонтов двух форм гемогрегаринов из диплоидного и триплоидного хозяина (скальные ящерицы Армении). Эритроциты триплоидных гибридов на одну треть крупнее соответствующих клеток диплоидных ящериц.

Сравнительное исследование показало, что размеры каждой формы гемогрегаринов одинаковы как в диплоидном, так и в триплоидном хозяине. Это явление, по-видимому, объясняется генетически закрепленной стабильностью размеров гамонтов, которые не претерпевают в эритроцитах процесса роста. С другой стороны, учитывая, что триплоидные хозяева гемогрегаринов в естественной популяции ящериц составляют не более 5—8% от общего числа особей, можно думать, что такая среда обитания не смогла изменить морфологии паразита, который более, чем в 90% случаев живет в клетках диплоидного хозяина.

REFERENCES

- Beyer T. V. 1968: Cytochemical studies on the haemogregarines of Armenian reptiles. I. DNA in the gamont nuclei of some *Karyolysus* species from the rock-lizards of the *Lacerta armenica* and *L. saxicola*. Acta Protozool., 6, 79—86.
- Cheïssin E. M. 1957: Izmenčivost oocist *Eimeria intestinalis* Cheïssin, 1948, parasita domašnego krolika. Vestn. Leningrad. Univ., 9, 43—52.
- Cheïssin E. M. 1967: Žiznennye cikly kokcidij domašnih životnyh. Izd. Nauka. Leningrad.
- Darevsky I. S. 1966: Natural parthenogenesis in a polymorphic group of Caucasian rock lizards related to *Lacerta saxicola* Eversmann. J. Ohio herpet. Soc., 5, 115—152.
- Darevsky I. S. 1967: Skalnye jaščericy Kavkaza. Izd. Nauka.
- Darevsky I. S. i Krasilnikov E. N. 1965: Nekotorye osobennosti kletok krovi triploidnyh hibridov skalnyh jaščeric (*Lacerta saxicola* Eversmann). Dokl. Akad. Nauk SSSR, 164, 709—711.
- Gläser H. J. 1965: Zur Kenntnis der Gattung *Dactylogyrus* Diesing, 1950 (*Mono-genoidea*). Z. Parasitenk., 25, 459—484.
- Gussev A. V. 1966: Some new species of *Dactylogyrus* from the european freshwater fishes. Folia parasit., 4, 289—321.
- Noble E. R. and Noble G. A. 1964: Parasitology. The biology of animal parasites. 2nd ed. Lea and Febiger, Philadelphia.
- Ovesmukhammadov A. 1968: Parasitičeskie prostejšie presmykajuščihsja Turkmenii. Izv. Akad. Nauk TSSR, ser. biol. (in press).

Maria JERKA-DZIADOSZ

Device for mass fragmentation of large ciliates

Przyrząd do masowej fragmentacji dużych orzęsków

The basic difficulty in the study of regeneration of *Protozoa* is the attaining of a large number of fragments simultaneously cut. A hand-operated metal or glass needle or the use of a micromanipulator permits to injure precisely the chosen parts of the cell, to cut off parts of the body or to attain cuts at different levels. These are undoubtedly the advantages of hand-operations. The disadvantage of such a method is the fact that the attainment of a larger number of fragments takes a fairly long time. To cut 100 cells of *Urostyla*, for instance, by means of a microscalpel takes about 15 minutes and in case of smaller *Protozoa*, or of greater mobility, the time needed is much longer. That is why fragments occur in a sample cut at different times, within a range of 15—30 minutes. That causes, for example a considerable inaccuracy in determination of duration times of the particular regeneration stages, or changes in cellular structures during this process and always requires some additional control observations, carried out on separate fragments.

There have been trials of overcoming these difficulties by means of a mechanic device cutting a large number of *Protozoa* at the same time.

Tartar 1954 used for cutting *Paramecium* a special 'whirling razor blade cutter', constructed by himself. The essentials of this device were razor blades attached to a spindle, rotated in a sample environment round its axis by means of a bow with a linen twine.

A similar principle was applied to the construction of the multi-edged cutter described which is rotated in an environment of a protozoa culture by means of an electric motor.

The device consists of the following parts (Plate I):

1. a laboratory stand,
2. a laboratory mixer,
3. a spindle with safety razor blades attached to it.

The laboratory mixer, type ML 2, manufactured by the Factory of Thermo-electric Equipment (Wytwórnia Aparatów Termoelektrycznych) 'Horyzont' in Cracow is fitted out with an electric repulsion motor with a controlled maximum revolution speed of 1900 rev./min. The described laboratory mixer is supplied with a set of glass mixer arms which in this case have been replaced by the spindle with safety razor blades. The spindle is fixed in the rotor head of the mixer (Plate I 1—3).

Two such spindles have been constructed. One is made of perspex (Plate I 4 B) and has a diameter of 0.7 cm. The other, of a smaller diameter of 0.48 cm

is made of a ground rod of silver-plated stainless steel. (Plate I 4 A). The cutting edges have been placed on its circumference symmetrically, every 120° , in four rows following a helix of a 3 mm pitch. Thus the distance between the cutting planes amounts to 1 mm. The cutting edges have been made of pieces of the stainless 'Silver' safety razor blades. The edge of an ordinary safety razor blade constitutes the cutting edges of the cutter. The length of the edge is equal to 15 mm. The reverse edges of the cutter have been ground by means of a grinding wheel. The cutting blades have been fixed in the spindle in horizontally cut grooves. Every cutting blade is supported from below by a spring wire of 0.5 mm in diameter and fixed by epoxy resin.

Performance of the operation

The cutting device has been tested while operating on the following Ciliates: *Urostyla cristata*, *Stentor coeruleus*, *Dileptus cygnus*, *Paramecium aurelia* and *Colpidium colpoda*.

A clear, detritusless and thickened culture of protozoa is put into a beaker of 50 ml in capacity. The spindle with cutting blades is submerged in the culture and started by means of a handwheel of the mixer head (Plate I, 2).

Different cutting times and speeds have been tested. The optimum operating conditions for *Urostyla*, *Stentor* and *Dileptus* are as follows: time of operation — 60 seconds at 300 revolutions per minute. After such an operation almost all the individuals in the culture are cut once or twice. The longer the operation is carried on, the more the number of small fragments increases which means that the ciliates are operated repeatedly. It has been stated that all the fragments of *Dileptus* are stripped of proboscis. It does not seem likely to be the result of the operation, but first of all, the movement of the environment, as *Dileptus* spun in a hand-operated centrifuge also loses the proboscis. A considerable part of the *Urostyla* and *Dileptus* fragments constitute pieces cut across the long axis of the body. The oblong fragments (with a large wound) obtained during the operation desintegrate, probably as a result of the movement of water. If the time of the operation is shortened and the number of revolutions per minute decreased, uncut individuals as well as oblong and across-cut fragments may be found in the sample.

The attempts of operating *Colpidium* and *Paramecium* did not bring satisfactory results. After one-minute operation at 300 revolutions per minute only very few cut individuals have been found in the sample. After having increased the cutting time and the number of revolutions the fragments desintegrate.

The cutting device described above has been constructed with the view of large and comparatively less mobile ciliates, such as *Urostyla* or *Dileptus*. It probably might be applied successfully to operate such protozoa as *Spirostomum* or *Blepharisma*.

After the operation the cutter was taken out of the culture, rinsed in distilled water, afterwards in alcohol and was left to dry. The ciliates were transferred onto a Petri dish and the result of the operation was checked under a stereo magnifying glass. The regeneration course of the *Urostyla cristata* fragments, the duration of separate stages and of the whole process correspond accurately with the regeneration processes occurring in separate fragments obtained as a result of hand-operations carried out with a microscalpel. Thus

the materials used for the construction of the spindle and cutting blades (perspex, silver-plated steel and epoxy resin) seem to be quite neutral towards the protozoa.

I owe my thanks to Mr Witold Wiernicki, M. Sc., M. E. for the helpful advice during my work on the model of this device as well as for the performance of the spindle with the cutting blades.

Summary

A device for mass fragmentation of larger ciliates has been constructed. A spindle with cutting blades has been mounted on a laboratory mixer with electric motor. The spindle is made of perspex or silver-plated steel. On the circumference cutting blades made of 'Silver' safety razor blades have been fixed following a helix of 3 mm pitch. The distance between the cutting planes amounts to 1 mm. The spindle is submerged in a thickened culture of ciliates such as *Urostyla*, *Dileptus* or *Stentor*. The operating time is 60 seconds at 300 revolutions per second. After such an operation almost all the individuals in the culture are cut and may be used for further studies on regeneration.

STRESZCZENIE

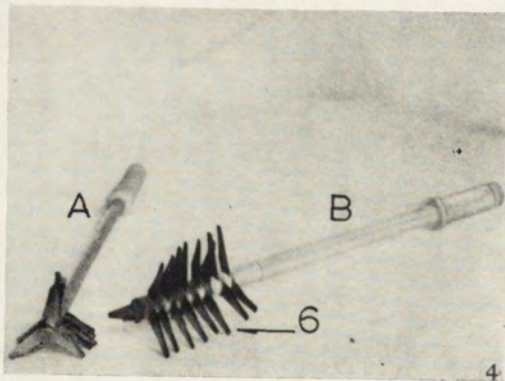
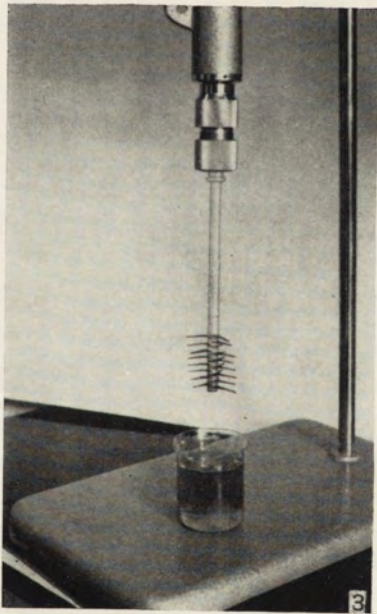
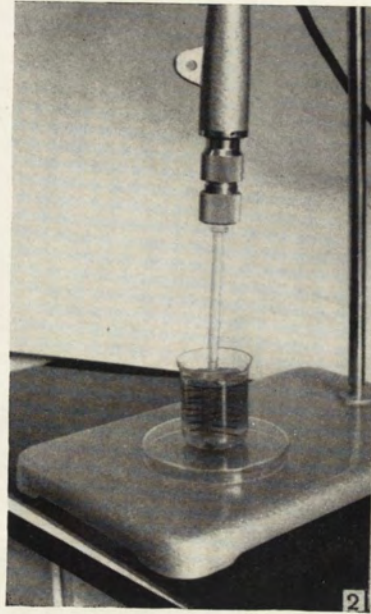
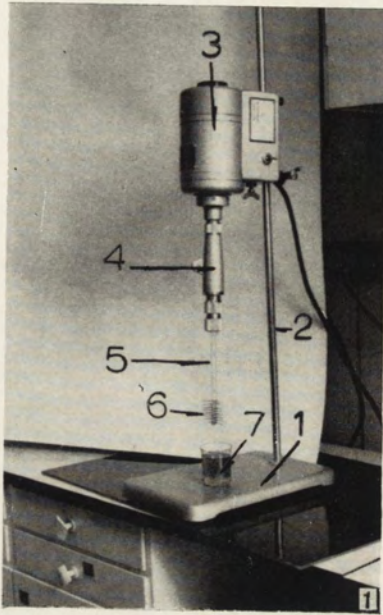
Skonstruowano urządzenie służące do masowej fragmentacji dużych orzęsków. Do mieszadła laboratoryjnego o silniku elektrycznym zamontowano wrzeciono z nożami. Wrzeciono zrobione jest z Plexi Glass lub stali posrebrzanej. Na obwodzie osadzono ostrza z kawałków żyletek "Silver" wzdłuż linii śrubowej o skoku 3 mm. Odstęp między płaszczyznami cięcia wynosi 1 mm. Wrzeciono zanurza się do zagęszczonej kultury orzęsków takich jak *Urostyla*, *Dileptus* czy *Stentor*. Czas operowania wynosi 60 sekund przy ilości obrotów 300 na min. Po takiej operacji prawie wszystkie osobniki w kulturze zostają pocięte i mogą służyć do dalszych badań nad regeneracją.

REFERENCES

- Tartar V. 1954: Anomalies in regeneration of *Paramecium*. J. Protozool., 1, 11—17.

EXPLANATION OF PLATE I

1. General view of the cutting device. 1 — the base of the laboratory stand; 2 — the rod of the stand; 3 — the electric motor; 4 — the mixer head; 5 — the perspex spindle; 6 — the safety razor blade cutter
- 2: The cutter submerged in a beaker with culture
- 3: The cutter after the operation
- 4: The spindles with cutting edges. A — the spindle made of silver-plated steel; B — the perspex spindle



M. Jerka-Dziadosz

auctor phot.

PROTISTOLOGICA

Tome IV (1968)

Fascicule 1

Bourelly P. — Note sur les Péridiniens d'eau douce	5
Cachon J. et Cachon M. — <i>Filodinium hovassei</i> nov. gen. nov. sp., Péridinien phorétique d'Appendiculaires	15
Corbel J.-C. — Rôle du kyste et des spores dans la fréquence et l'intensité des infestations grégariennes chez les Orthoptères	19
Grain J. — Les systèmes fibrillaires chez <i>Stentor igneus</i> Ehrenberg et <i>Spirostomum ambiguum</i> Ehrenberg	27
Devauchelle G. et Oger C. — Analyse biométrique des Grégarines de <i>Tenebrio molitor</i>	37
De Puytorac P. et Savoie A. — Observations cytologiques et biologi- ques sur <i>Prorodon palustris</i> n. sp.	53
Bonhomme A. — Mise en évidence de l'action cellulolytique des Ciliés Oligotriches du genre <i>Entodinium</i>	61
Schrevel J., Oger C. et Wissocq J. C. — Factures influençant la production des kystes des Grégarines parasites de l'Annélide Polychète <i>Syllis amica</i> Quatr. Etude quantitative: problèmes et méthodes	67
Dragesco J. — Les genres <i>Pleuronema</i> , Dujardin, <i>Schizocalyptra</i> n. g. et <i>Histiobalantium</i> , Stokes (Ciliés Holotriches Hyménostomes)	85
Tuzet O., Ormières R. et Théodorides J. — A propos d'une Grégarine parasite de <i>Licinus punctatulus</i> Fabr., <i>Ramicephalus licini</i> n. comb. (= <i>Cometoides licini</i> Tuz. Théod. 1951). Remaniement des genres <i>Ancyrophora</i> , <i>Ramicephalus</i> et <i>Cometoides</i>	107
Fauré-Fremiet E. — Les genres <i>Dexiotricha</i> Stokes et <i>Loroxcephalus</i> Eberhard dans leurs relations auxomorphiques	115
Hollande A. et Valentin J. — Morphologie infrastructurale de <i>Tri- chomonas</i> (<i>Trichomitopsis</i> Kofoid et Swezy 1919) <i>termopsidis</i> , parasite intestinal de <i>Termopsis angusticollis</i> Walk. Critique de la notion de centrosome chez les Polymastigines	127
Schuster F. L., Goldstein S. et Hershenov B. — Ultrastructure of a flagellate, <i>Isonema nigricans</i> nov. gen. nov. sp., from a polluted marine habitat	141

Fascicule 2

Dragesco J. — A propos de <i>Neobursaridium gigas</i> , Balech, 1941: Sténother- mie, inclusions, ultrastructure des trichocystes	157
Albaret J.-L. — Observations sur la région buccale du Cillé <i>Ophryoglena mucifera</i> M., et sur sa régénération	169
Manier J. F. et Ormières R. — Ultrastructure de quelques stades de <i>Chytridiopsis socius</i> Schn. parasite de <i>Blaps lethifera</i> Marsh. (<i>Coleopt. Tenebr.</i>)	181
Persoone G. — Ecologie des infusoires dans les salissures de substrats immergés dans un port de mer. I. Film primaire et le recouvrement primaire	187
Fauré-Fremiet E. et André J. — Structure corticale d'une Amibe édaphique	195
Greuet C. — Organisation ultrastructurale de l'ocelle de deux Péridiniens <i>Warnowiidae</i> , <i>Erythroopsis pavillardi</i> Kofoid et Swezy et <i>Warnovia pulchra</i> Schiller	209
Dodge J. D. and Crawford R. M. — Fine structure of the Dinoflagellate <i>Amphidinium carteri</i> Hulbert	231

Fasciculi praeparati:

J. Kaczanowska and D. Kowalska: Studies on topography of the cortical organelles of *Chilodonella cucullulus* (O.F.M.). L. The cortical organelles and intracellular dimorphism [Studia nad topografią organellów korykalnych *Chilodonella cucullulus* (O.F.M.). I. Organelle korykalne i dymorfizm wewnątrzklonalny] — W. Foissner: Eine neue Art aus der Gattung *Colpidium* (Stein, 1860): *Colpidium kleini* n. sp. (*Hymenostomata*, *Tetrahymenidae*) [A new species of the genus *Colpidium* (Stein, 1860): *Colpidium kleini* sp. n. (*Hymenostomata*, *Tetrahymenidae*)] — M. A. Khan: Fine structure of *Ancistrocoma pelseneeri* (Chatton et Lwoff), a rhynchodine thigmotrichid ciliate [Ultrastructure de *Ancistrocoma pelseneeri* (Chatton et Lwoff), Cilié thigmotriche rhynchodine] — В. Г. Селиверстова: Некоторые данные по ультратонкому строению макрогамет *Eimeria tenella* (*Sporozoa*, *Coccidia*) [Some data on the ultrastructure of macrogametes of *Eimeria tenella* (*Sporozoa*, *Coccidia*)] — Е. С. Снигиревская: Электронномикроскопическое изучение процесса шизогонии *Eimeria intestinalis* [Electron microscopic study of the schizogony process in *Eimeria intestinalis*] — А. В. Успенская: Ультратонкое строение некоторых стадий *Myxidium gasterostei* Noble, 1943 [Ultrastructure of some stages of development of *Myxidium gasterostei* Noble, 1943] — D. M. Saxena: Enzyme systems in ciliates *Blepharisma intermedium* and *Spirostomum ambiguum*: phosphates, ureases and dehydrogenases [Die Enzym-systeme bei Ciliaten *Blepharisma intermedium* und *Spirostomum ambiguum*: Phosphatasen, Urease und Dehydrogenasen] — P. Bedrník: Cultivation of *Eimeria tenella* in tissue cultures. I. Further development of second generation merozoites in tissue cultures [Kultivace kokcidie *Eimeria tenella* v tkaňových kulturách. I. Další vývoj merozoitů druhé generace v tkaňové kultuře] — V. F. Nikoljuk: Some aspects of the study of soil protozoa [Некоторые аспекты изучения почвенных простейших]

SUBSCRIPTION

price is \$ 7.50 for one volume consisting of four parts appearing quarterly

Place your order with your bookseller or directly with:

Export and Import Enterprise „RUCH”

Warszawa, Wronia 23, Poland

Cable: Exprimruch, Warszawa

Bank Account: Bank Handlowy S.A. Warszawa

In the East-European countries the subscription orders are to be placed with the local agencies for press distribution.

Państwowe Wydawnictwo Naukowe
(PWN — Polish Scientific Publishers)
Warszawa

Fasciculi:

27. I. B. Raikov and V. G. Kovaleva: Complements to the fauna of psammobiotic ciliates of the Japan Sea (Posjet gulf) [Новые данные по фауне псаммофильных инфузорий Японского моря (залив Посьет)] 309
28. V. Golemansky: Materiaux sur la faune thecamoebienne (*Rhizopoda, Testacea*) de Cuba [Материалы върху тестацейната фауна (*Rhizopoda, Testacea*) на Куба] 335
29. J. J. Lipa: *Plistophora geotrupina* sp.n., a microsporidian parasite of dung beetles *Geotrupes* spp. (*Coleoptera, Scarabaeidae*) [*Plistophora geotrupina* sp. n. (*Microsporidia*), nowy pasożyt żuków gnojowników *Geotrupes* spp. (*Coleoptera, Scarabaeidae*)] 341
30. И. В. Исси: *Stempellia rubtsovi* sp.n. (*Microsporidia, Nosematidae*) — паразит личинок кавказской мошки *Odagmia caucasica* Rubz. (*Diptera, Simuliidae*) [*Stempellia rubtsovi* sp.n. (*Microsporidia, Nosematidae*), a microsporidian parasite of *Odagmia caucasica* larvae (*Diptera, Simuliidae*)] 345
31. S. L. Kazubski: Seasonal variability of *Thigmocoma acuminata* Kazubski, 1958 (*Thigmatricha*) [Zmienność sezonowa *Thigmocoma acuminata* Kazubski, 1958 (*Thigmatricha*)] 353
32. S. A. Burnasheva, M. V. Ostrovskaja, G. A. Yurzina: The ultrastructure of flagella in *Strigomonas oncopelti* [Ультраструктура жгутов *Strigomonas oncopelti*] 357
33. М. М. Соловьев: Морфологические и биологические особенности лямблий в связи с обитанием их на щеточной каемке кишечного эпителия [Morphological and biological peculiarities of *Lamblia* in connection with their habitat on the brush border of intestinal epithelium] 365
34. T. V. Beyer: On the size of haemogregarines from diploid and triploid hosts, the Armenian rock lizards [О размерах гемогрегаринов скальных ящериц Армении из диплоидного и триплоидного хозяина] 377
35. M. Jerka-Dzidosz: Device for mass fragmentation of large ciliates [Przyrząd do masowej fragmentacji dużych orzęsków] 383

With this issue the Volume VI is complete