

Rechten voorbehouden

Van interne verslagen zijn nadruk of aanhalingen
slechts toegestaan met uitdrukkelijke toestemming
van het NIOZ.

Levenscyclus en systematiek van drie nauw verwante
Cotylurus-soorten (Trematoda, Strigeidae)

door

H. Heessen

NEDERLANDS INSTITUUT VOOR ONDERZOEK DER ZEE

PUBLICATIES EN VERSLAGEN:

Nummer 1972-18

Levenscyclus en systematiek van drie nauw verwante
Cotylurus-soorten (Trematoda, Strigeidae)

door

H. Heessen

Intern verslag

over

werkzaamheden verricht als onderwerp
voor het doctoraal examen biologie
in het tijdvak van november 1971 - juni

1972

aan

het NIOZ te Texel

voor

Prof. Dr. D. Swierstra

(Rijks Universiteit te Utrecht)

onder supervisie van

C. Swennen

NEDERLANDS INSTITUUT VOOR ONDERZOEK DER ZEE

PUBLICATIES EN VERSLAGEN:

nummer 1972-18

Levenscyclus en systematiek van drie nauw verwante
Cotylurus-soorten (Trematoda, Strigeidae)

door

H. Heessen

Intern verslag

Inhoud

I. Summary	3
Samenvatting	3
II. Inleiding	4
III. Materiaal en methoden:	8
1. Uitgangsmateriaal	8
2. Infektieproeven met metacercariën	8
3. Proefvogels	9
4. Adulte wormen	11
5. Opvangen van faeces	12
6. Verzamelen van de eieren	12
7. Behandeling van de eieren	13
a. Methode van Odening	13
b. Eigen methode	13
8. Slakken	14
9. Miracidiën	15
10. Infektieproeven met miracidiën	15
11. Sporocysten	15
12. Cercariën	15
IV. Metacercariën:	16
1. Algemene beschrijving van de metacercariën van <u>Cotylurus</u>	16
2. Metacercariën bij <u>Acerina cernua</u>	16
a. Metacercariën met grote zuignappen	17
b. Metacercariën met kleine zuignappen	17
c. Verspreiding van beide typen over de verschillende lichaamsdelen van <u>Acerina cernua</u>	18

3. Metacercariën bij <u>Osmerus eperlanus</u>	19
4. Infektieproeven met metacercariën	19
a. infektieproeven met <u>Tetracotyle ovata</u>	19
b. infektieproeven met <u>T. percaefluviatilis</u>	20
c. infektieproef met <u>T. intermedia</u>	21
V. Adulte wormen:	22
1. Algemene beschrijving van adulte wormen die zich ontwikkelen uit <u>Tetracotyle ovata</u> en <u>T. percaefluviatilis</u>	22
2. Verschillen tussen adulte wormen uit dunne darm en kloaka	23
a. 5 dagen oude adulten	23
b. 7 dagen oude adulten	23
c. "Oudere" adulten	24
d. Diskussie	26
3. Nomenklatuur van de adulte wormen	27
VI. Eieren van <u>Cotylurus variegatus</u> en <u>C. p. platycephalus</u>	31
VII. Miracidiën:	33
1. Algemene beschrijving	33
2. Gedrag	33
VIII. Infektie van slakken:	33
1. In de natuur	33
2. Eksperimenteel	34
3. Diskussie	34
IX. Sporocysten:	35
1. Ontwikkeling	35
2. Afmetingen	36
X. Cercariën:	36
1. Ontwikkelingsduur	36
2. Algemene beschrijving	36
3. Afmetingen	37
4. Diskussie	37
XI. Resistentie:	37
1. Inleiding	37
2. Eigen experimenten	38
3. Diskussie	38
XII. Litteratuurlijst	40

I. Summary

Acerina cernua, collected in December 1971 and January 1972 from the IJsselmeer, was infected with Tetracotyle ovata (body cavity and pericardial cavity) and T. percaefluviatilis (air-bladder), Osmerus eperlanus, from the same lake, was infected with Tetracotyle intermedia (pericardial cavity) and to a lower intensity with T. ovata.

When ingested by Larus argentatus the metacercariae developed to patent adults:

T. ovata to Cotylurus p. platycephalus (cloaca)

T. percaefluviatilis to C. variegatus (small intestine)

T. intermedia to C. erraticus (small intestine).

Eggs were collected from C. p. platycephalus and C. variegatus.

After 21 - 23 days at 20 C embryos were fully developed.

Mother and daughter sporocysts developed in the operculate snail, Valvata piscinalis.

Cercaria emerged 12 weeks after infection.

Some type of immunity develops in gulls infected several times in the laboratory.

Samenvatting

Acerina cernua, afkomstig uit het noordwestelijke deel van het IJsselmeer, bleek te zijn besmet met Tetracotyle ovata (cysten vooral tussen de ingewanden en in het hartzakje) en met T. percaefluviatilis (cysten vooral in de zwemblaaswand).

Osmerus eperlanus, uit hetzelfde gebied, was hoofdzakelijk besmet met Tetracotyle intermedia (vooral in het hartzakje) en in geringe mate met T. ovata.

Met deze metacercariën werden bij Larus argentatus

eksperimentele infecties uitgevoerd. Uit Tetracotyle ovata ontwikkelde zich in de kloaka van de proefdieren Cotylurus p. platycephalus. Uit T. percaefluviatilis ontwikkelde zich in de dunne darm C. variegatus en uit T. intermedia, eveneens in de dunne darm, C. erraticus.

Van Cotylurus p. platycephalus en C. variegatus werden eieren verzameld. Na 21 - 23 dagen inkubatie bij 20°C waren de embryonen volledig ontwikkeld. Wanneer de eieren daarna drie dagen bij 5°C waren bewaard, werden de miracidiën tot uitkomen gebracht.

De miracidiën ontwikkelden zich tot sporocysten in op het laboratorium gekweekte juveniele exemplaren van Valvata piscinalis. Bij de op het IJsselmeer verzamelde slakken werden geen besmette exemplaren gevonden. Twaalf weken na infectie van de Valvata's werden de eerste cercariën waargenomen.

Uit resistentieproeven met metacercariën van Cotylurus p. platycephalus en C. variegatus bij Larus argentatus en L. fuscus bleek resistentie tegen Cotylurus op te kunnen treden. Dit in tegenstelling tot negatieve resultaten van ODENING (1970, 1971).

II. Inleiding

In het waddengebied werd door SWENNEN (1971) enkele malen sterfte waargenomen bij Larus argentatus (zilvermeeuw), die bleek te zijn veroorzaakt door een trematode uit de familie der Strigeidae.

Grote hoeveelheden parasieten hadden zich vastgehecht in dunne darm en kloaka, soms ook in de bursa Fabricii. Deze waren daarvoor bloederig en verstopt.

Wanneer zilvermeeuwen gevoerd werden met Acerina cernua (pos) afkomstig uit het IJsselmeer, bleek zich dezelfde parasiet te ontwikkelen. Volgens SWENNEN (1971) had men te maken met Cotylurus platycephalus. Ook werden infectieproeven uitgevoerd met Osmerus eperlanus (spiering), eveneens afkomstig uit het IJsselmeer. Hierbij ontwikkelde zich in de dunne darm van de proefdieren een kleinere soort trematode van hetzelfde geslacht, nml. Cotylurus erraticus.

In 1970 beschreef OLSON hiervan de levenscyclus. In hetzelfde jaar verscheen een publikatie van ODENING c.s. (1970) waarin hij de levenscyclus beschreef van Cotylurus c. cucullus (synoniem voor C. p. platycephalus), uit kloaka en bursa Fabricii van visetende vogels. In 1971 beschreef ODENING c.s. tevens de levenscyclus van Cotylurus variegatus, uit de dunne darm van visetende vogels.

De levenscyclus van de drie hierboven genoemde soorten is nogal complex. Naast de eindgastheer zijn er twee tussengastheren.

De adulte worm produceert via geslachtelijke voortplanting eieren. Deze komen met de faeces in zoet water terecht en ontwikkelen zich tot vrij zwemmende miracidiën. De miracidiën dringen binnen in een slak, de eerste tussengastheer. Hierin ontwikkelen ze zich moedersporocysten.

De moedersporocysten produceren via ongeslachtelijke voortplanting dochtersporocysten. Deze produceren, weer via ongeslachtelijke voortplanting, vrij zwemmende cercariën. De cercariën dringen een vis binnen, de tweede tussengastheer, en kapselen zich daar in tot metacercariën. Wanneer de vis wordt opgegeten door een vogel, de eindgastheer, komen de metacercariën vrij uit hun cysten en hechten zich vast aan de wand van darm of kloaka.

- a. Levenscyclus van C.c. Cucullus (= C.p. platycephalus) volgens ODENING (1970):

Metacercariën werden o.a. gevonden bij Lucioperca lucioperca, (snoekbaars), Acerina cernua en Osmerus eperlanus, gevangen in de omgeving van Berlijn.

De metacercariën ontwikkelden zich in 5-6 dagen tot geslachtsrijpe wormen, in kloka en bursa Fabricii van kunstmatig uitgebroedde exemplaren van Larus ridibundus (kokmeeuw). Sporocysten ontwikkelden zich experimenteel in Valvata piscinalis (vijverpluimdrager). Cercariën ontwikkelden zich tot metacercariën in Mesogonistius chaetodon en Puntius t. tetrazona (tropische siervissen). Eén levenscyclus duurt minimaal 12 - 13 weken.

- b. Levenscyclus van Cotylurus variegatus volgens ODENING (1971):

Metacercariën werden o.a. gevonden bij Perca fluviatilis (baars) en Acerina cernua, gevangen in de omgeving van Berlijn. De metacercariën ontwikkelden zich in 4 tot 7 dagen tot geslachtsrijpe wormen in de dunne darm van kunstmatig uitgebroedde exemplaren van Larus ridibundus. Sporocysten ontwikkelden zich experimenteel in Valvata piscinalis. Cercariën ontwikkelden zich tot metacercariën in Mesogonistius chaetodon. Eén levenscyclus duurt bij 20°C ongeveer 12 weken.

- c. Voor Cotylurus erraticus beschreef OLSON (1970) de volgende levenscyclus:

Metacercariën werden gevonden bij Salmo gairdneri, Salvelinus fontinalis, Oncorhynchus nerka, O. kisutch en Thymallus arcticus uit Georgetown Lake (Canada). De metacercariën ontwikkelden zich in de dunne darm van juveniele exemplaren van Larus californicus in vier dagen tot geslachtsrijpe wormen.

Sporocysten ontwikkelden zich experimenteel in Valvata lewisi.

Bij infectieproeven kapselden de cercariën zich in, in de pericardiale holte van Salmonidae. Bij 20°C duurt één volledige cyclus 10 - 12 weken.

Omtrent de juistheid van de twee publikatie van ODENING c.s. (1970, 1971) bestaan twijfels.

Hebben we hier inderdaad te maken met twee verschillende soorten Cotylurus, de ene uit de kloaka en bursa, de andere uit de dunne darm?

Zijn deze twee soorten ook morfologisch van elkaar te onderscheiden?

Om hierop een antwoord te vinden werden metacercariën uit Acerina cernua en Osmerus eperlanus, afkomstig uit het IJsselmeer, bestudeerd.

Met deze metacercariën werden infectieproeven gedaan bij Larus argentatus en L. fuscus.

Op deze manier konden volwassen wormen en eieren daarvan worden verzameld. Naast adulten uit eksperimentele infecties werden wormen uit natuurlijke infecties bestudeerd (verzameld door SWENNEN c.s.).

De eieren werden bij 20°C geïncubeerd. Nadat ze volledig waren ontwikkeld werden ze tot uitkomen gebracht. Met de miracidiën werden infectieproeven gedaan bij Valvata piscinalis en enige andere soorten slakken. Hiertoe werden op het laboratorium jonge Valvata's gekweekt. ODENING (1970, 1971) gebruikte voor zijn infectieproeven in het wild verzamelde jonge Valvata's, daar het hem niet lukte ze op het laboratorium te kweken.

Adulte en juveniele exemplaren van o.a. Valvata piscinalis, afkomstig uit het IJsselmeer, werden onderzocht op een mogelijke besmetting met Cotylurus.

Ten slotte werd door middel van een serie infectieproeven bij

dezelfde proefdieren nagegaan of er bij vogels resistentie tegen besmetting met Cotylurus kan optreden.

III. Materiaal en methode

1. Uitgangsmateriaal

Als uitgangsmateriaal voor deze studie werden metacercariën gebruikt uit Osmerus eperlanus en Acerina cernua. Deze vissen werden in december 1971 en januari 1972 in het noordwestelijk deel van het IJsselmeer gevangen door het onderzoekingsvaartuig "Eider". Ze werden in het laboratorium bij 3°C bewaard en gebruikt tot juni 1972.

Voor de laatste infectie van de proef over resistentie tegen besmetting met Cotylurus bij vogels, werd in juni 1972 in het IJsselmeer opnieuw Acerina cernua gevangen. De metacercariën werden levend, of gefixeerd in 5% formaline, bestudeerd onder het fasekontrast-mikroskoop.

2. Infectieproeven met metacercariën

De metacercariën werden in een zo koel mogelijke ruimte uit de vissen vrijgeprepareerd. Dit gebeurde door de vis te decapiteren, waarna geprepareerd werd in een half met ijs gevulde P.V.C.- bak.

De cysten werden met behulp van een vis gevoerd (om ze langs een zo natuurlijk mogelijke weg de vogel te laten binnenkomen). Hier-voor werd Acerina cernua gebruikt die bij -40°C was ingevroren, zodat eventueel aanwezige trematoden waren gedood.

De vissen werden ontdaan van scherpe stekels. Via de anus werden de ingewanden met een pincet verwijderd.

De cysten werden daarna in de lege lichaams holte gebracht. Hierbij werd ervoor gezorgd dat de vis op dezelfde temperatuur was, zodat de metacercariën geen grote temperatuurschok kregen.

Met nog enkele andere visjes werd de vis met metacercarien in de oesophagus van de proefvogel gestopt. Daarna werd de snavel voor en achter de neusgaten met leukoplast dichtgeplakt, om uitbraken van het voedsel te voorkomen. Na enkele uren werd het leukoplast weer verwijderd.

3. Proefvogels

De meeuwen waren gehuisvest in een volière van 4 x 4 x 2 m. Ze werden gevoerd met vis die bij - 40°C was ingevroren. Deze was daardoor vrij van trematoden.

428: Larus argentatus, 1^o jaars ♂ .

Afkomstig van het Texels Museum.

Waarschijnlijk vrij van trematoden, daar geruime tijd alleen diepgevroren vis gevoerd was.

Besmet met ± 30 metacercariën van de zwemblaaswand van Acerina cernua (zie pag. 20)

Na 5 dagen gedecapiteerd.

429: Larus fuscus (kleine mantelmeeuw), 1^o jaars ♂ .

Afkomstig van het Texels Museum.

Waarschijnlijk vrij van trematoden, daar geruime tijd alleen diepgevroren vis gevoerd was.

Zeven keer besmet met metacercariën van de ingewanden en/of van de zwemblaaswand van Acerina cernua (zie pag. 39)

Gedecapiteerd.

430: Larus argentatus, 1^o jaars ♀ .

Afkomstig van het Texels Museum.

Waarschijnlijk vrij van trematoden, daar geruime

tijd alleen diepgevroren vis gevoerd was.

Besmet met $\pm$ 30 metacercariën van de ingewanden van Acerina cernua (zie pag. 19).

Na 5 dagen gedecapiteerd.

431: Larus argentatus, 1^o jaars ♀ .

Afkomstig van het Texels Museum.

Waarschijnlijk vrij van trematoden, daar geruime tijd alleen diepgevroren vis gevoerd was.

Zeven keer besmet met metacercariën van de ingewanden en/of van de zwemblaaswand van Acerina cernua (zie pag. 39).

Gedecapiteerd.

438: Larus argentatus, adult ♂ .

Afkomstig van het Texels Museum.

Vrij van trematoden door toedienen van 1 ml C Cl₄^{*}.
besmet met $\pm$ 200 metacercariën van de ingewanden van Acerina cernua (zie pag. 19).

Na 5 dagen gedood m.b.v. CO₂.

439: Larus argentatus, adult ♂ .

Afkomstig van het Texels Museum.

Vrij van trematoden door toedienen van 1 ml C Cl₄.
Besmet met $\pm$ 200 metacercariën van de zwemblaaswand van Acerina cernua (zie pag. 20).

Na 5 dagen gedood m.b.v. CO₂.

* Met behulp van een injectiespuit, waaraan een plastic slangetje bevestigd was, werd 1 ml tetrachloorkoolstof in de slokdarm gespoten.

440: Larus argentatus, 3^o jaars ♂.

Afkomstig van het Texels Museum.

Vrij van trematoden door toedienen van 1 ml C Cl₄.

Besmet met ± 500 metacercarien van de ingewanden van Acerina cernua (zie pag. 19).

Na 5 dagen gedood door toedienen van 0,5 gr. ~~0,5~~ chlorallose.

442: Larus argentatus, adult ♀.

Afkomstig van het Texels Museum.

Vrij van trematoden door toedienen van 1 ml C Cl₄.

Besmet met 6 exemplaren van Osmerus eperlanus (zie pag. 21).

Na 5 dagen gedood m.b.v. CO₂.

489: Larus argentatus, 1^o jaars ♀.

Gevangen m.b.v. kanonnet in polder 't Horntje, Texel.

Vrij van trematoden door 3 x toedienen van 1 ml C Cl₄.

Dit gebeurde met een tussentijd van enkele dagen.

Besmet met "vele" metacercarien van de zwemblaaswand van Acerina cernua (zie pag. 20).

Na 7 dagen gedecapiteerd.

490: Larus argentatus, 1^o jaars ♀.

Gevangen m.b.v. kanonnet in polder 't Horntje, Texel.

Vrij van trematoden door 2 x toedienen van 1 ml C Cl₄.

Dit gebeurde met een tussentijd van enkele dagen.

Besmet met ± 100 metacercariën van de ingewanden van

Acerina cernua (zie pag. 19).

Na 7 dagen gedecapiteerd.

4. Adulte wormen

Nadat de geïnfecteerde meeuwen waren gedood, werden ze meestal één nacht bewaard bij 0°C. De volgende dag werden de adulte wormen uit darm en kloaka vrijgeprepareerd en gefixeerd in 5% formaline.

Van een aantal wormen werden gekleurde preparaten gemaakt. Hierbij werd de volgende kleurmethode gebruikt:

De dieren 5-30 minuten in een oplossing van

97 delen rode karmijn opgelost in 45% azijn zuur en

3 delen ferriacetaat in ijsazijn.

Hierna is een alcoholreeks: 40, 60, 70, 80, 90, 96, 96% (telkens 1 uur). Daarna ophelderen in kruidnagelolie en insluiten in canada-balsem.

5. Opvangen van faeces

Hiervoor werd gebruik gemaakt van een hokje volgens Fig. 1. [‡] De meeuw zit hierin op een verwisselbaar hor, waaronder een P.V.C.-bak geschoven kan worden. Na enige uren werd de meeuw weer teruggezet in de volière en werd het hokje schoongemaakt.

6. Verzamelen van de eieren

Met water werd de faeces door twee boven elkaar geplaatste zeven gespoeld. De bovenste zeef had een maaswijdte van 0,25 mm, de onderste van 0,05 mm. Grote bestanddelen bleven achter op de eerste zeef, eieren van Cotylurus ($\pm 110 \mu$) op de tweede. Om zo veel mogelijk verontreinigend materiaal kwijt te raken werden de eieren twee maal geschud in een maatcilinder van 500 cc. Na enige uren werd de bovenstaande vloeistof afgeheveld (Fig. 2).

De eieren werden bewaard bij 5° C. Het water dat gebruikt werd, was afkomstig uit de Moksloot (afwateringssloot van waterwingebied op Texel). Het werd voor gebruik gefiltreerd.

Texels leidingwater bevat voor bepaalde evertibraten een

[‡]

(Bodemoppervlak: 40 x 50 cm, hoogte 50 cm)

dodelijke hoeveelheid koper, en kan daarom niet voor dit soort proeven worden gebruikt.

7. Behandeling van de eieren

a. Methode van ODENING (ODENING 1970, 130)

De eieren worden bij 20°C geïnkubeerd in zoet water, in petrischalen.

Wanneer het water bedorven is, wordt het verversst. Na ongeveer 22 dagen zijn de embryonen volledig ontwikkeld.

De eieren worden dan tenminste drie dagen bewaard bij 5°C. Deze tijdelijke afkoeling is nodig om de eieren te kunnen laten uitkomen. Bij deze temperatuur kunnen ze maandenlang goed worden bewaard.

De beste resultaten bij het uitkomen van de eieren worden verkregen wanneer de schaalpjes met eieren onder een sterke lichtbron (200 W lamp) worden gezet. Het water wordt verwarmd tot 28°C. Bij normale kamertemperatuur en bij daglicht komen de miracidiën dan binnen een half uur uit.

b. Eigen methode

De eieren werden bij 20°C geïnkubeerd in zoet water, in petri-schalen of bekersglazen. Twee maal per week werd het water verversst met water van gelijke temperatuur. Na 21-23 dagen waren de embryonen volledig ontwikkeld. De eieren werden dan tenminste drie dagen bewaard bij 5°C. Wanneer de eieren daarna weer bij kamertemperatuur in het daglicht werden gezet kwamen de miracidiën na enkele minuten uit het eikapsel gekropen. Plaatsing onder een sterke lichtbron en verhoging van de temperatuur van het water zoals aangegeven door ODENING (1970, 130) bleek niet noodzakelijk te zijn.

8. Slakken

In december 1971 werden in het noordwestelijk deel van het IJsselmeer, vanaf het onderzoekingsvaartuig "Eider", bodemmonsters genomen met een bodemHapper. Deze monsters werden met water uitgezeefd.

Ze werden vooral 'adulte' exemplaren van Valvata piscinalis verzameld. Voor onderzoek werden ze bij 5°C bewaard in petrischalen. Het water werd regelmatig verversd. Na enige tijd werd een deel van de slakken bij kamertemperatuur gebracht en gevoerd met detritus, afkomstig uit eerder genoemde Moksloot. Na ongeveer een week werden eikapsels afgezet. De jonge slakken aten aanvankelijk algaanslag op de ruit, later ook detritus. De aquaria stonden onder een lichtbak met TL-buizen op 40 cm hoogte.

In februari 1972 werden door van BANNING (RIVO) een-aantal Bithynia tentaculata en enkele Valvata's verzameld bij de Flevo-centrale. In de omgeving kwam zwaar met Cotylurus besmette Lucioperca lucioperca (snoekbaars) voor. In juni 1972 werden nogmaals Valvata's verzameld in het noordwestelijk deel van het IJsselmeer.

De in het laboratorium gekweekte exemplaren van Potamopyrgus jenkinsi, Bithynia tentaculata lymnaea peregra werden gevoerd met kunstvoer.

Dit was als volgt samengesteld (vrij naar STANDER (1951)):

- 150 g spinazie
- 100 g peen groenten in diepvriestoestand, eerst
- 100 g andijvie fijnmalen in vleesmolen, daarna in mixer
- 50 g kool
- 75 g tarwekiemen
- 50 g vismeel
- 25 g melkpoeder (mager)
- 10 g Na - alginaat (apart oplossen)
- 1 ei
- 2 sepiaschelpen

1 vitamine A - D - tablet
(ingrediënten voor 1 liter voer)

Na mengen, uitharden in calciumchloride-oplossing (40 g/l. Daarna calciumchloride wegspoelen en invriezen.

De Valvata's aten niet van dit kunstvoer.

9. Miracidiën

De miracidiën werden levend onder het mikroskoop bestudeerd. Daartoe werden hun bewegingen vertraagd door een oplossing van cellulose. Het gedrag van miracidiën ten opzichte van een slak werd onder een binoculair bestudeerd. Hierbij werd in een horlogeglas met enkele druppels water één slak met twee miracidiën samengebracht.

10. Infektieproeven met miracidiën

De infektieproeven werden uitgevoerd in kleine petrischalen (ϕ 7 cm). Hierbij werden 10 - 25 slakken met enkele tientallen tot enkele honderden eieren, die op uitkomen stonden, samengebracht. Na één dag werden de slakken overgezet in een grotere petrischaal of een volglazen aquarium.

11. Sporocysten

De sporocysten werden onder het binoculair voorzichtig uit de slakken vrijgeprepareerd en daarna levend onder het mikroskoop bestudeerd.

12. Cercariën

Toen drie maanden na infektie de eerste cercariën werden waargenomen waren nog slechts vijf met *Cotylurus* besmette *Valvata's* in leven. Om de cercariën te verzamelen werden de besmette slakken gedurende een halve dag of tenminste enige uren apart gezet in een kleine

petrischaal. Deze werd op een lichte plaats, in het zonlicht of onder een lamp gezet. Er kwamen in totaal slechts een twintigtal cercariën vrij, waardoor het moeilijke was deze goed te bestuderen, vooral ook omdat dit naast andere werkzaamheden moest gebeuren.

Een deel van de cercariën werd levend onder het dekglas onder het mikroskoop bestudeerd een ander deel werd gefixeerd met formaline (5%) en onder het dekglas gekleurd met karmijnaluin, echter met zeer gering resultaat.

IV. Metacercariën

1. Algemene beschrijving van de metacercariën van Cotylurus

Het platte lichaam is rond tot ovaal van vorm. De mondopening bevindt zich aan de voorkant van het lichaam. Eromheen ligt de mondzuignap. Aan weerszijden van de mondzuignap liggen twee uitstulpbare zuignappen: de pseudo zuignappen. De buikzuignap ligt ongeveer in het midden. Deze bevat geen lichaamsopening.

Hierachter bevindt zich het trybocyt-orgaan. Dit orgaan groeit bij de adulte worm uit tot een vasthechtingsorgaan in het voorste segment.

Het voorste deel van de darm, de pharynx, is verdikt en bolvormig tot ovaal. De darm vertakt zich spoedig daarachter in een linker en rechter tak die achter in het lichaam blind eindigen.

2. Metacercariën bij Acerina cernua

Volgens SWENNEN (1971) is Acerina cernua, afkomstig uit het IJsselmeer, voor 100% besmet met Cotylurus. Ook de door mij in december 1971 en juni 1972 gevangen vissen waren voor 100% besmet met Cotylurus. Bij nadere bestudering bleken twee typen metacercariën te onderscheiden te zijn:

a. Metacercariën met grote zuignappen (Figuur 3)

Afmetingen: Zie Tabel II

Lokalisatie: De cysten bevonden zich voornamelijk in groepjes tussen de ingewanden en in het hartzakje, enkele tegen de dorsale muskulatuur en in de zwemblaaswand (zie ook Tabel I).

Aantal: Enige tientallen tot enige honderden per vis.

Diskussie: Deze metacercariën komen overeen met de door VON LINSTOW (1877) als Tetracotyle ovata beschreven metacercariën.

VON LINSTOW vond Tetracotyle ovata aan darm en peritoneum van Abramis brama, Blicca bjoerkna, Acerina cernua en Osmerus eperlanus. ODENING (1970) vond bij Acerina cernua zelden cysten van T. ovata aan het hart. Meestal wel in de buurt ervan en in de lichaamsholte in groepjes aan de ingewanden.

b. Metacercariën met kleine zuignappen (Figuur 3)

Afmetingen: Zie Tabel II

Lokalisatie: De cysten bevonden zich hoofdzakelijk verspreid in de zwemblaaswand. Ook bevonden zich enkele cysten tussen groepjes cysten van T. ovata in het hartzakje, tussen de ingewanden en tegen de dorsale muskulatuur. (zie ook Tabel I).

Aantal: Enkele tot enige tientallen per vis.

Diskussie: Deze metacercariën zijn voor het eerst beschreven door MOULINÉ (1856) als "Tetracotyle de la perche fluviatile". MOULINÉ vond de cysten van deze metacercariën tussen de ingewanden, aan het hart en

Tabel II

Afmetingen (in μ) van metacercariën uit Acerina cernua en Osmerus eperlanus.

Naam	Herkomst	Totale lengte	Totale breedte	MZN* lengte	MZN breedte	BZN** lengte	BZN breedte	TO*** lengte	TO breedte
<u>Tetracotyle ovata</u>	<u>Acerina cernua</u> ^e	643	558	109	118	180	206	130	260
	(levend, eigen metingen)	(489-890)	(351-714)	(88-150)	(88-175)	(138-226)	(175-238)	(75-213)	(188-325)
	? (Von LINSTOW, 1877)	840	570	98	130	160	210		
<u>Tetracotyle percae- fluviatilis</u>	<u>Acerina cernua</u> ^{ee}	572	506	68	75	88	94	149	181
	(levend, eigen metingen)	(438-814)	(313-601)	(51-88)	(63-88)	(75-100)	(88-113)	(88-200)	(138-238)
	<u>Perca fluviatilis</u> (Von LINSTOW, 1877)	680	320	65		95			
<u>Tetracotyle intermedia</u>	<u>Osmerus eperlanus</u> ^{ooo}	363	313	56	63	63	69	120	150
	(levend, eigen metingen)	(313-407)	(263-344)	(44-69)	(50-75)	(44-69)	(63-75)	(75-144)	(100-188)
	? (gefixeerd, HUGHES 1928)	380	300	59		57	66	74	105

* MZN : mondzuignap

** BZN : buikzuignap

*** TO : trybocyt orgaan

^e gemiddelde en extremen van 29 eksemplaren^{ee} " " " " " "^{ooo} " " " " " "

tegen de rugmuskulatuur van bijna 100% van Perca fluviatilis uit het meer van Genève. VON LINSTOW (1877) veranderde de naam in Tetracotyle percae-fluviatilis Moulinié. ODENING (1971) vond bij Acerina cernua de cysten van T. percae-fluviatilis vooral in de zwemblaaswand en tegen de rugmuskulatuur, ook in groepjes in de lichaamholte, naast of in groepjes van T. ovata.

c. Verspreiding van beide typen over de verschillende lichaamsdelen van Acerina cernua

Uit het voorgaande blijkt dat de cysten van Tetracotyle ovata zich vooral tussen de ingewanden, die van T. percae-fluviatilis zich vooral in de zwemblaaswand van Acerina cernua bevinden.

In Tabel I vindt men een voorbeeld van de verspreiding van beide soorten over de verschillende lichaamsdelen bij een eksemplaar van 8.5 cm van Acerina cernua.

Tabel I

Lokalisatie	<u>T. ovata</u>	<u>T. percae-fluviatilis</u>
Ingewanden	210	3
Hartzakje	49	10
Zwemblaaswand	2	32
Rugmuskulatuur	6	10

3. Metacercariën bij Osmerus eperlanus (Figuur 3)

Voor Osmerus eperlanus, afkomstig uit het IJsselmeer, geeft KRIJGSMAN (1971) een besmettingspercentage van 98-99%.

De door mij onderzochte vissen, gevangen in december 1971, waren voor 100% besmet met Cotylurus.

Afmetingen: Zie Tabel II

Lokalisatie: De cysten bevonden zich vooral in het hartzakje, soms ook tussen de ingewanden.

Aantal: Enkele tot enige tientallen cysten per vis.

Diskussie: Deze metacercariën komen overeen met de door HUGHES (1928), onder de naam Tetracotyle intermedia, beschreven metacercariën. HUGHES vond deze metacercariën in het pericardium van Prosopium cylindraceum en Coregonus artedii (fam. Salmonidae).

4. Infektiëproeven met metacercariën

a. Infektiëproeven met Tetracotyle ovata

Uitgangsmateriaal: Metacercariën ingekapseld tussen de ingewanden van Acerina cernua

Proefresultaten: Zie Tabel III

Tabel III

Nr. proefvogel		gevoerde aantal cysten	adulten in kloaka	adulten in dunne darm
430	⌘	30	27	-
438	⌘	200	50	3
440	⌘	200	138	1
490	⌘⌘	100	42	-

⌘ sektie 5 dagen na infectie

⌘⌘ sektie 7 dagen na infectie

Diskussie: Adulten, die zich ontwikkelen uit T. ovata, hechten zich vooral vast in de kloaka van de eindgastheer. ODENING (1970, pag. 165) geeft als lokalisatie voor de adulten de kloaka en, indien aanwezig, de bursa Fabricii. In de bursa werden door mij nooit adulten gevonden.

b. Infektieproeven met Tetracotyle percaefluviatilis

Uitgangsmateriaal: metacercariën ingekapseld in de zwemblaaswand van Acerina cernua.

Proefresultaten: Zie Tabel IV

Tabel IV

Nr. proefvogel		gevoerde aantal cysten	adulten in kloaka	adulten in dunne darm
428	*	30	-	26
439	*	200	-	187
489	**	vele	15	243

* sekte 5 dagen na infectie

** sekte 7 dagen na infectie

Diskussie: Adulten, die zich ontwikkelen uit T. percaefluviatilis, hechten zich vooral vast in het achterste deel van de dunne darm. Dit komt overeen met de resultaten van ODENING (1971, pag. 72).

De adulten, die zich bij de laatste proef in de kloaka hebben vastgehecht, hebben zich waarschijnlijk ontwikkeld uit T. ovata, omdat bij deze proef ook tegen de rugmuskulatuur gelegen cysten werden gevoerd.

De adulten die zich bij de tweede en derde infektieproef met

T. ovata (zie Tabel III) in de dunne darm hebben vastgehecht, hebben zich waarschijnlijk ontwikkeld uit T. percae-fluviatilis. De cysten tussen de ingewanden van Acerina cernua zijn immers grotendeels van T. ovata, maar daartussen bevinden zich ook cysten van T. percae-fluviatilis (zie Tabel I).

c. Infektioproef met Tetracotyle intermedia

Uitgangsmateriaal: metacercariën die zich bevonden in zes exemplaren van Osmerus eperlanus. De cysten werden niet vrij geprepareerd.

Proefresultaten: Zie Tabel V

Tabel V

Nr. proefvogel	gevoerde aantal cysten	adulten in kloaka	adulten in dunne darm
442 *	onbekend	3	21

* sekte 5 dagen na infectie

Diskussie: De adulten uit de dunne darm komen overeen met de beschrijvingen van Cotylurus erraticus. De drie adulten uit de kloaka komen overeen met de adulten die zich ontwikkelen uit Tetracotyle ovata. Hieruit blijkt dat Osmerus eperlanus niet alleen met T. intermedia maar ook met T. ovata besmet kan zijn.

V. Adulte wormen

1. Algemene beschrijving van adulte wormen die zich ontwikkelen uit Tetracotyle ovata en T. percaefluviatilis

De adulte wormen bestaan uit twee segmenten: een komvormig voorste segment met vasthechtingsorganen en een cilindrisch achterste segment met voortplantingsorganen.

In het voorste segment ligt, aan de binnenzijde van de wand van de kom, een mondzuignap met direkt daarachter de pharynx (aan de dorsale zijde van het lichaam). Op de bodem van de kom bevindt zich de buikzuignap, aan de basis van het trybocytorgaan. Het trybocytorgaan bestaat uit een dorsale en een ventrale lob (ODENING 1970, pag. 167) (zie Fig. 4 en 5).

Vrijwel direkt achter de pharynx vertakt de darm zich in een linker en een rechter tak. Deze eindigen blind in het caudale uiteinde. Het achterste segment is voor ongeveer de helft gevuld met gonaden. Er zijn twee achter elkaar gelegen testes. Ze bestaan uit verschillende lobben en zijn vaak moeilijk van elkaar te onderscheiden. Tussen de testes ligt het begin van de uterus. De uterus mondt uit aan de basis van de uitstulpbare bulbus genitalis, caudaal gelegen. Vlak voor de testes ligt het ovarium, rond tot ovaal van vorm. Het wordt overlapt door testisweefsel en vitellaria.

Vóór de gonaden wordt de ruimte in beslag genomen door vitellaria. Deze beperken zich tot het achterste segment (een kenmerk van het geslacht Cotylurus). Ter hoogte van de testes versmallen de vitellaria zich tot een smalle ventrale baan. Achter de testes strekken ze zich lateraal weer uit in dorsale richting.

2. Verschillen tussen adulte wormen uit dunne darm en kloaka

a. 5 dagen oude adulten (Zie Figuur 6)

De verschillen zijn samengevat in Tabel VI

Tabel VI

Lokalisatie	dunne darm	kloaka
Vorm van het voorste segment	gesloten, tulpvormig	open, komvormig
Lichaamslengte	tot 4,8 mm (gemiddeld 3,7)*	tot 3,9 mm ** (gemiddeld 3,2)
<u>Lengte voorste segment</u>	$\frac{2}{5}$ *	$\frac{1}{2}$ **
<u>lengte achterste segment</u>		

* gemiddelde en maximum van 25 eksemplaren

** gemiddelde en maximum van 22 eksemplaren

b. 7 dagen oude adulten

Van tien eksemplaren werd de grootte van de zuignappen en van de pharynx gemeten. In Tabel VII zijn de gemiddelde en de uiterste waarden aangegeven in μ .

Tabel VII

Lokalisatie	dunne darm	kloaka
Mondzuignap	260 (236-273)	260 (198-329)
Pharynx	174 x 149 (155-192) (136-161)	192 x 136 (161-211) (105-149)
Buikzuignap	223 x 211 (174-267) (186-242)	254 x 229 (217-291) (198-260)

Eveneens werd de ligging van de zuignappen nagegaan. Hiertoe werd de afstand gemeten van de bovenkant van het voorste segment tot de voorste rand van de mondzuignap en de afstand van de onderkant van het voorste segment tot de onderkant van de buikzuignap. In Tabel VIII zijn deze afstanden, uitgedrukt in de lengte van de desbetreffende zuignap, aangegeven.

Tabel VIII

Lokalisatie	dunne darm	kloaka
Bovenrand VS [*] -MZN ^{**}	1,1 MZN-lengte	1,1 MZN-lengte
onderkant VS -BZN ^{***}	1,7 BZN-lengte	1,4 BZN-lengte

^{*}VS: voorste segment ^{**}MZN: mondzuignap ^{***}BZN: buikzuignap

c. "Oudere" adulten

Van vijf verschillende, natuurlijke infecties van Larus argentatus (dood gevonden op Texel^{*}) werden telkens 10 wormen gemeten. In Tabel IX zijn naast eigen gegevens die van ODENING (1970 en 1971) weergegeven.

^{*} Bij eksperimentele infecties waarbij Acerina cernua aan Larus argentatus werd gevoerd, stierven de proefdieren na 9 dagen (SWENNEN, 1971). Deze natuurlijke infecties hadden een dodelijke afloop. De wormen zullen daarom waarschijnlijk ook + 9 dagen oud zijn.

Tabel IX

Lokalisatie	bron	dunne darm	kloaka
Lichaamslengte	eigen	tot 11 (gem. 8) mm	tot 9 (gem. 7) mm
	ODENING ('70, '71)	tot 13 mm	tot 12 (meestal 10) mm
<u>Lengte voorste segm.</u> lengte achterste segm.	eigen	$\frac{1}{3}$	$\frac{1}{2}$
	ODENING ('70, '71)	$\frac{4}{5}$ tot $\frac{1}{2}$ en $\frac{1}{3}$ tot $\frac{1}{4}$	$\frac{2}{3}$ tot $\frac{1}{2}$

Van tien wormen uit de dunne darm en tien uit de kloaka (afkomstig van dezelfde meeuw) werd de grootte van de zuignappen en de pharynx gemeten. In Tabel X zijn de gemiddelde en de uiterste waarden aangegeven in μ , evenals de afmetingen volgens ODENING (1970, 1971).

Tabel X

Lokalisatie	bron	dunne darm	kloaka
Mondzuignap	eigen	341 (273-378)	347 (206-403)
	ODENING (1970, 1971)	242-345	161-385
	eigen	248x186 (236-267) (170-192)	205-155 (186-242) (130-176)
Pharynx	ODENING (1970, 1971)	182-242 x 152-197	177-231 x 122-205
	eigen	291x267 (273-353) (223-310)	291x298 (248-341) (229-372)
Buikzuignap	ODENING (1970, 1971)	221-314 324-383	256-336 280-430

Bij de wormen, waarvan de grootte van zuignappen en pharynx gemeten is, werd ook de ligging van de zuignappen nagegaan (zie Fig. 8). Hiertoe werd weer de afstand van de mondzuignap tot de bovenkant van het voorste segment en de afstand van de buikzuignap tot de onderkant van het voorste segment gemeten en uitgedrukt in de lengte van de desbetreffende zuignap. In Tabel XI zijn de gemiddelde waarden voor tien exemplaren aangegeven.

Tabel XI

Lokalisatie	dunne darm	kloaka
bovenrand VS [*] -MZN ^{**}	1 MZN-lengte	1,5 MZN-lengte
onderkant VS-BZN ^{***}	3 BZN-lengten	1,5 BZN-lengten

^{*} VS : voorste segment ^{**} MZN: mondzuignap ^{***} BZN: buikzuignap

d. Diskussie

Bij de 5 dagen oude adulten is het meest opvallende verschil tussen wormen uit de dunne darm en de kloaka, de vorm van het voorste segment. Hierin, en in de verhouding tussen de lengte van het voorste en het achterste segment, komen echter overgangsvormen voor, waardoor beide soorten niet duidelijk van elkaar te onderscheiden zijn.

Bij de 7 dagen oude adulten blijkt geen duidelijk verschil te bestaan tussen de afmetingen van zuignappen en pharynx. De ligging van de mondzuignap is bij beide soorten hetzelfde. De buikzuignap van de exemplaren uit de dunne darm ligt iets meer naar het midden van het voorste segment dan bij wormen uit de kloaka.

De "oudere" (waarschijnlijk 9 dagen oude) exemplaren uit de kloaka zijn meestal iets kleiner dan die uit de dunne darm. De

verhouding tussen de lengte van het voorste segment en de lengte van het achterste segment is niet steeds hetzelfde voor wormen uit kloaka en dunne darm. Er komen ook hier overgangsvormen voor. Tussen de afmetingen van zuignappen en pharynx van wormen van beide soorten blijkt niet veel verschil te bestaan. De eigen gegevens stemmen ongeveer overeen met die van ODENING (1970, 1971).

Beide zuignappen liggen bij wormen uit de kloaka meestal dieper in het voorste segment dan bij de wormen uit de dunne darm. Dit komt overeen met de gegevens van ODENING (1970, 1971).

Naast de plaats van vasthechting van de wormen blijken lengteverhouding van voorste en achterste segment en ligging van de zuignappen de beste kenmerken te zijn waarop beide soorten van elkaar te onderscheiden zijn.

Bij 5 dagen oude adulten zijn de verschil nog niet erg duidelijk. Volgens G. DUBOIS (uit brief d.d. 3-4-72), die dit eksperimentele materiaal bestudeerde, behoorden de wormen uit dunne darm en kloaka tot één soort nml. Cotylurus p. platycephalus.

De verschillen zijn het duidelijkst bij tenminste 9 dagen oude adulten. Er komen echter nogal sterke individuele verschillen voor. Bij determinatie dienen steeds meerdere kenmerken te worden beschouwd.

3. Nomenklatuur van de adulte wormen

CREPLIN (1825) beschreef als eerste een grote trematode uit de bursa Fabricii van Gavia stellata onder de naam Amphistoma platycephalum, (ODENING 1970, 176). Een andere grote trematode uit de darm van Larus marinus beschreef CREPLIN als Amphistoma variegatum (ODENING 1971, 75).

BRANDES (1888) beschouwde deze twee als één soort, die bij Holostomum variegatum noemde. Ook de naam Strigea variegata werd in deze

- tijd gebruikt, (ODENING 1970, 177).
- THOSS (1897) beschreef een nieuwe soort uit de bursa Fabricii van Larus ridibundus als Holostomum cucullus. Hij ging niet nader in op het onderscheid met eerder beschreven soorten (ODENING 1970, 177).
- LUEHE (1909) beschouwde Holostomum cucullus als synoniem van Holostomum variegatum (ODENING 1970, 177).
- SZIDAT (1928) stelde het geslacht Cotylurus op. Amphistoma platycephalum en Holostomum cucullus beschouwde hij als synoniem en noemde deze soort Cotylurus platycephalus (kloaka en bursa Fabricii). Amphistoma variegatum noemde hij Cotylurus variegatus (darm). Volgens ODENING (1970, 177) werden door SZIDAT ook kenmerken van Cotylurus pileatus (RUDOLPHI, 1802) aan Cotylurus variegatus toegeschreven.
- HUGHES (1928) beschreef Cotylurus communis, een soort die veel lijkt op C. platycephalus. Deze soort werd door CREPLIN (1932) uitvoeriger beschreven, uit bursa en dikke darm van Larus argentatus uit Noord Amerika. (ODENING 1970: 177) (NIEWIADOMSKA 1970: 57).
- DUBOIS (1937) beschouwde C. variegatus als synoniem van de veel kleinere C. pileatus, waardoor als enige grote soort in darm, kloaka en bursa C. platycephalus overbleef. C. communis was volgens hem inderdaad een aparte soort. (ODENING 1970, 178-179; ODENING 1971, 78).
- DUBOIS (1948) beschouwde nu C. communis als noord-amerikaanse ondersoort van C. platycephalus en noemde deze ondersoort Cotylurus platycephalus communis. De europese soort noemde hij C. platycephalus platycephalus. (NIEWIADOMSKA 1970, 57).

- SUDARIKOV (1959) en andere Russische parasitologen waren van mening dat C. communis toch een aparte soort was, (NIEWIADOMSKA 1970, 57).
- SIGIN (1961) maakte melding van vondsten van C. communis in de Sovjet Unie, (NIEWIADOMSKA 1970, 57). Hij noemde C. platycephalus uit kloaka en bursa voortaan C. communis. C. variegatus uit de darm noemde hij C. platycephalus. Deze naamsverwisseling werd door andere Russische auteurs (o.a. RAZMASKIN) overgenomen. (ODENING 1970, 178).
- DUBOIS (1962) beschreef van Europa een nieuwe soort uit de darm van Spheniscus humboldti als Cotylurus cumulitestis, (ODENING 1971, 78) (DUBOIS 1968, 206).
- RAZMASKIN (1966) toonde experimenteel aan dat C. communis (kloaka) en C. platycephalus (darm) twee verschillende soorten waren met dezelfde gastheer, maar voorkomend in verschillende darmdelen (NIEWIADOMSKA 1970, 57).
- NIEWIADOMSKA (1969) maakte onderscheid tussen twee soorten in kloaka en bursa, nml. C. platycephalus (CREPLIN, 1825) en C. cucullus (THOSS 1897) (= C. communis (HUGHES, 1928)).
- ODENING (1969) verdeelde het genus Cotylurus in twee subgenera: a Cotylurus. De adulten hebben testes die uit drie lobben bestaan. De metacercariën zijn ingekapseld in Gastropoda en Hirudinea. b Ichthyocotylurus, met testes die uit drie lobben bestaan, die elk weer in vele lobjes zijn onderverdeeld. De metacercariën zijn ingekapseld in vissen.
- ODENING (1970) beschreef de levenscyclus van C. c. cucullus (THOSS) uit kloaka en bursa Fabricii.
- ODENING (1971) beschreef de levenscyclus van C. variegatus (= C. cumulitestis (DUBOIS, 1962)) uit de darm.

ODENING (1972) toonde aan, dat de verschillen die NIEWIADOMSKA (1970) vond tussen C. platycephalus en C. cucullus, veroorzaakt waren door verschillende fixering. Hij wijzigt de naam van C. c. cucullus in C. p. platycephalus (Europa en Azië) en onderscheidt daarnaast C. platycephalus communis (Noord-Amerika).

Samenvatting en discussie nomenklatuur

De hier behandelde trematoden zijn voor het eerst in 1825 door CREPLIN beschreven als: Amphistoma platycephalum (bursa Fabricii) en Amphistoma variegatum (darm).

SZIDAT beschreef in 1928 het geslacht Cotylurus waarbij het geslacht Amphistoma werd ingedeeld. De namen veranderden daardoor in Cotylurus platycephalus (kloaka en bursa) en Cotylurus variegatus (darm).

Van Cotylurus platycephalus wordt een Euro-aziatische en een noord-amerikaanse ondersoort onderscheiden (DUBOIS, 1948; ODENING, 1972). Hierdoor wordt de naam voor onze adulten uit kloaka en bursa Cotylurus platycephalus platycephalus. De naam van de adulten uit de darm blijft Cotylurus variegatus.

NIEWIADOMSKA (1969) maakte onderscheid tussen twee soorten in kloaka en bursa. Zij deed dit op grond van kenmerken zoals de vorm van het voorste en achterste segment, de verhouding van de breedte van beide segmenten en de verdeling van de vitellaria over het achterste segment.

Wanneer echter een aantal adulten uit de kloaka (van eigen eksperimentele en van natuurlijke infecties) volgens deze kenmerken werd gescheiden, ontstond voor ieder kenmerk een andere verdeling. Onderscheid volgens gegeven kenmerken bleek dus niet mogelijk te zijn.

De bewering van ODENING (1972) dat verschillen tussen beide soorten, zoals aangegeven door NIEWIADOMSKA, door verschillende fixering zouden zijn veroorzaakt kon niet meer worden nagegaan.

VI. Eieren van Cotylurus variegatus en C. p. platycephalus

Er werden door mij twee infectieproeven uitgevoerd om eieren van Cotylurus variegatus en C. p. platycephalus te verzamelen.

Proefdier no. 429 (Larus fuscus, 1^o jaars) werd besmet met Cotylurus variegatus, door middel van 150 exemplaren van Tetracotyle percaefluviatilis van de zwemblaaswand van Acerina cernua.

Proefdier no. 431 (Larus argentatus, 1^o jaars) werd besmet met Cotylurus p. platycephalus, door middel van 200 exemplaren van Tetracotyle ovata van de ingewanden van Acerina cernua.

Zes dagen na de infectie bevatte de faeces van beide vogels de eerste eieren. Deze waren lichtbruin van kleur, ovaal van vorm en voorzien van een operculum (zie Fig. 7).

De afmetingen van de eieren, en de duur van de eiafscheiding van beide Cotylurus - soorten, waren enigszins verschillend. Naast gegevens van ODENING (1970, 1971) is dit aangegeven in Tabel XII.

De eieren van Cotylurus variegatus blijken enigszins langer en smaller te zijn dan die van C. p. platycephalus. De eierproductie duurt bij Cotylurus p. platycephalus langer dan bij C. variegatus.

Bij 20^o C bedroeg de ontwikkelingsduur van de embryonen van beide soorten 21-23 dagen. Dit komt overeen met gegevens van ODENING (1970, 135; 1971, 52). Verschil in ontwikkelingssnelheid van de embryonen van Cotylurus variegatus en C. p. platycephalus werd door mij niet gevonden.

Tabel XII

	bron	<u>Cotylurus</u> <u>variegatus</u>	<u>C. p.</u> <u>platycephalus</u>
Afmeting van de eieren	eigen	111 x 67 [‡] (95-140) (55-75)	109 x 70 (95-133) (58-78)
	ODENING (1970/1971)	114 x 65 (95-132) (44-69)	104 x 71 (100-120) (68-79)
Aantal dagen na de infectie	eigen	6 t/m 19	6 t/m 22
waarop de faeces eieren bevatte	ODENING (1970/1971)	5-6 t/m 10-15	5-6 t/m 15-23

[‡] afmetingen in μ , gemiddelde -, minimum - en maximum waarde van 100 eieren.

Afmetingen van de embryonen (gemiddelde van 30 exemplaren):

1^o dag : 20 x 20 μ
 7^o dag : 30 x 25 μ
 14^o dag : 54 x 35 μ

Het volledig ontwikkelde embryo is iets langer dan het eikapsel. Het embryo ligt vlak voor uitkomen gedeeltelijk gebogen in het kapsel.

Bij twee monsters met eieren van Cotylurus variegatus bedroeg het aantal ontwikkelde eieren (100 eieren na 20 dagen inkubatie geteld) resp. 19 en 15%. Bij drie monsters met eieren van C. p. platycephalus bedroeg het aantal ontwikkelde eieren resp. 25,53 en 31%.

VII. Miracidiën

1. Algemene beschrijving

Er is geen opvallend verschil tussen miracidiën van Cotylurus variegatus en C. p. platycephalus. Ze zijn ongeveer $150 \times 35 \mu$ groot. Het cilindrische lichaam is voorzien van ciliën. Vooraan liggen twee komvormige oogvlekken.

2. Gedrag

De miracidiën zwemmen erg snel met behulp van ciliën. Ze zwemmen in een vrij rechte lijn en maken daarbij een roterende beweging. Wanneer een jong exemplaar van Valvata piscinalis met enkele miracidiën werd samengebracht, veroorzaakte dit niet direkt een verandering in het gedrag van de miracidiën.

Pas wanneer een miracidium "bij toeval" tegen de Valvata aanzwom leek het plotseling geactiveerd te worden. Het miracidium zwom daarna enige tijd sneller en probeerde af en toe de slak binnen te dringen.

Enige malen werd waargenomen dat een miracidium in de mantelholte rondzwom en daarin probeerde de slak binnen te dringen. Steeds kwam het echter weer tevoorschijn en zwom weg.

Het binnendringen van een miracidium werd door mij geen enkele keer waargenomen.

VIII. Infektie van slakken

1. In de natuur

Bij slakken, afkomstig uit het IJsselmeer, werd geen enkel besmet exemplaar aangetroffen.

Hiervoor werden gecontroleerd:

50 Valvata piscinalis

- 25 Potamopyrgus jenkinsi in december 1971 verzameld in het
 15 Bithynia tentaculata noordwestelijk deel van het IJsselmeer.
- 4 Valvata piscinalis half februari 1972 verzameld bij
 30 Bithynia tentaculata de Flevo-centrale
- 100 Valvata piscinalis , in juni 1972 verzameld in het noord-
 westelijk deel van het IJsselmeer.

2. Eksperimenteel:

Infektieproeven in het laboratorium slaagden alleen bij jonge
 exemplaren van Valvata piscinalis. Niet besmet werden:

Potamopyrgus jenkinsi
Bithynia tentaculata
Lymnaea peregra

3. Diskussie

Eksperimentele en waarschijnlijk ook natuurlijke eerste tussengastheers
 van Cotylurus variegatus en C. p. platycephalus is Valvata piscinalis.
 Dit komt overeen met de resultaten van ODENING (1970; 1971). ODENING
 deed infectieproeven bij talrijke soorten Gastropoda.

OLSON (1970) vond Valvata lewisi als experimentele eerste
 tussengastheer van Cotylurus erraticus. Osmerus eperlanus uit het
 IJsselmeer is voor bijna 100% besmet met Cotylurus erraticus. Valvata
lewisi komt hier echter niet voor. Waarschijnlijk is Valvata piscinalis
 hier ook voor Cotylurus erraticus eerste tussengastheer. Dan is in
 het IJsselmeer Valvata piscinalis mogelijk de eerste tussengastheer
 voor drie Cotylurus - soorten.

Acerina cernua en Osmerus eperlanus uit het IJsselmeer zijn
 voor 100% besmet met Cotylurus. Het is daarom verwonderlijk dat geen
 enkele besmette slak gevonden werd. ODENING (1971) stelt echter dat
 het besmettingspercentage van adulte Valvata's zeker minder is dan

1% en van juveniele Valvata's zeker minder dan 0,3% (na controle van duizenden slakken). OLSON (1970) vond ook geen besmette slakken. Dergelijke hoge besmettingspercentages voor Acerina cernua en Osmerus eperlanus en lage besmettingspercentages voor Valvata piscinalis zijn alleen te verklaren doordat Valvata's in het IJsselmeer zeer talrijk zijn. Het is ook mogelijk dat de meeste slakken pas na juni worden besmet.

IX. Sporocysten (Fig. 9, 10, 11)

1. Ontwikkeling

Tussen de sporocysten van beide soorten werden geen opvallende verschillen gevonden. De miracidiën ontwikkelden zich bij Valvata piscinalis vlak achter de kop tot moedersporocysten. De moedersporocysten zijn gemakkelijk te onderscheiden van dochtersporocysten doordat ze pigmentresten bevatten van de oogvlekjes van de miracidiën. Vier weken na infectie werden de eerste dochtersporocysten gevonden.

Een deel van de sporocysten dringt langzaam verder naar achter door in het lichaam van de slak. Tot zover komt dit overeen met de resultaten van ODENING (1970, 1971).

Vijf weken na infectie bevonden zich bij mijn proefdieren dochtersporocysten in de uiterste punt van de gonade. ODENING (1970, 1971) vond pas twee maanden na infectie sporocysten in de middendarmklier, die nog vóór de gonade ligt.

Tot zes maanden na infectie werden door mij bij Valvata's sporocysten gevonden. Resultaten van ODENING worden niet gegeven, wel acht hij het waarschijnlijk dat een slak levenslang (1-3 jaar) besmet zal blijven met Cotylurus (ODENING 1970, pag 133).

2. Afmetingen

Cotylurus variegatus:

Moedersporocyste : het grootste exemplaar was $1850 \times 75 \mu$
(11 weken na infectie)
ODENING (1971, 55) vond exemplaren van
 $587 - 1420 \times 103 - 184 \mu$.

Dochtersporocyste : het grootste exemplaar was $1920 \times 75 \mu$
(3 weken na infectie)
ODENING (1971, 55) vond exemplaren van
 $500 - 800 \times 60 - 110 \mu$.

Cotylurus p. platycephalus:

Moedersporocyste:

Het grootste exemplaar was $1350 \times 120 \mu$ (4 weken na infectie)
ODENING (1970, 137) vond exemplaren van $1000 \times 120 \mu$.

Dochtersporocyste:

Het grootste exemplaar was $690 \times 70 \mu$ (4 weken na infectie)
ODENING (1970, 137) vond exemplaren groter dan $1000 \times 120 \mu$.

X. Cercariën (Fig. 12)

1. Ontwikkelingsduur

Twaalf weken na infectie werden de eerste cercariën van Cotylurus p. platycephalus en C. variegatus waargenomen. Volgens ODENING (1970, pag. 136) bedraagt de minimale ontwikkelingsduur van cercariën van C. p. platycephalus 4 - 11,5 week. Voor C. variegatus is dit ± 8 weken (ODENING 1971, pag. 51).

2. Algemene beschrijving

De cercariën bestaan uit twee delen: a het voorste deel met mondzuignap, pharynx, buikzuignap en boorklierzellen, b het achterste deel, de zwemstaart, bestaande uit een staartstam die zich splitst

in twee furcae. In de staartstam bevinden zich een aantal grote cellen, de "Kaudalkörper". Aan weerszijden bezit de staartstam een aantal zintuigharen. Hun lengte is ongeveer gelijk aan de breedte van de staartstam.

3. Afmetingen: zie Tabel XIII

4. Diskussie

Wat betreft de afmetingen is er nauwelijks verschil tussen beide soorten cercariën. Wel zou er volgens ODENING (1970 en 1971) tussen beide soorten verschil zijn wat betreft het aantal zintuigharen, de ligging van de boorkliercellen en het aantal "Kaudalkörper". Door het geringe aantal cercariën en moeilijkheden bij de kleuring ervan konden deze verschillen niet voldoende worden bestudeerd. Voor wat betreft de ligging van de boorkliercellen lijkt ODENING gelijk te hebben:

Bij C. p. platycephalus achter de buikzuignap,
bij C. variegatus naast of achter de buikzuignap.

XI. Resistentie

1. Inleiding

OLSON (1970, 62) konstateerde het optreden van immuniteitsverschijnselen tegen metacercariën van Cotylurus erraticus bij Larus californicus. In de loop van één jaar deed hij zes infectieproeven bij dezelfde proefdieren. De duur van de infectie (wel of geen eieren in faeces) werd in de loop van de proefperiode steeds korter nml. van 14 dagen bij de eerste tot drie dagen bij de laatste infectie.

ODENING (1970, 172) vond bij Larus ridibundus geen resistentie-

Tabel XIII

	<u>C.p. platycephalus</u>		<u>C. variegatus</u>	
	eigen	ODENING	eigen	ODENING
	metingen [*]	1970, p. 138	metingen ^{**}	1971, p. 55
Voorste segment	169 ^{***}	114-316	186	184-272
Staartstam	216	173-352	233	220-294
Furcae	260	173-294	266	257-330
Mondzuignap	36x26	30-37x19-32	37x25	37-47x20-37
Buikzuignap	30x30	23-32x25-32	28x28	24-31x27-31

^{*} gemiddelde waarden van 4 eksemplaren

^{**} gemiddelde waarden van 5 eksemplaren

^{***} afmetingen in μ

verschijnselen tegen Cotylurus p. platycephalus en ook niet tegen C. variegatus (ODENING 1971, 73).

2. Eigen experimenten

Larus argentatus (no. 431) en Larus fuscus (no. 429) werden beide, in de loop van zes maanden, 7 keer geïnfecteerd met metacercariën van Cotylurus p. platycephalus (Tetracotyle ovata) en/of metacercariën van C. variegatus (T. percaefluviatilis) uit Acerina cernua, of met hele vissen. Zie Tabel XIV en XV. .

3. Diskussie

Uit Tabel XIV blijkt dat al na een infectie met metacercariën van Cotylurus variegatus, hierna bij twee herinfekties resistentie daar- tegen optreedt. Een hierop volgende infectie met C. p. platycephalus verloopt positief. Bij herinfektie treedt resistentie op. Wanneer na geruime tijd opnieuw met Cotylurus, nu met beide soorten tegelijk, wordt geïnfecteerd slaat de infectie wel aan, maar een herinfektie verloopt weer negatief.

In Tabel XV is de resistentie bij C. p. platycephalus minder duidelijk dan bij de voorgaande proefserie. De infectie met Cotylurus variegatus slaat niet erg goed aan. Uit eerder genoemde infecties (pag. 19) met metacercariën van C. p. platycephalus blijkt dat hierbij ook enige metacercariën van C. variegatus kunnen zijn. Het is mogelijk dat het proefdier daardoor al enigszins resistent was tegen de metacercariën van C. variegatus vóór de eigenlijke infectie met C. variegatus.

In tegenstelling met wat ODENING (1970, 1971) bij Larus ridibundus vond blijkt bij L. argentatus en L. fuscus wel resistentie tegen Cotylurus op te kunnen treden.

Tabel XIV

Resistentie-proeven bij Larus fuscus (no. 429)

Metacercariën van	Aantal	Aantal dagen na vorige infektie	Besmetting	Duur van de infektie
<u>C. variegatus</u>	150	-	sterk positief	-19 ^o dag
<u>C. variegatus</u>	200	35	negatief	-
<u>C. variegatus</u>	200	12	negatief	-
<u>C.p.platycephalus</u>	200	15	positief	-19 ^o dag
<u>C.p.platycephalus</u>	200	21	negatief	-
<u>C.p.platycephalus</u>	? [*]	68	positief	-
<u>C. cariegatus</u>	? [*]			
<u>C.p.platycephalus</u>	120	28	negatief	
<u>C. variegatus</u>	100			

Tabel XV

Resistentie-proeven bij Larus argentatus (no. 431)

Metacercariën van	Aantal	Aantal dagen na vorige infektie	Besmetting	Duur van de infektie
<u>C.p.platycephalus</u>	200	-	sterk positief	-22 ^o dag
<u>C.p.platycephalus</u>	200	35	negatief	-
<u>C.p.platycephalus</u>	200	12	zwak positief	-10 ^o dag
<u>C. variegatus</u>	200	15	zwak positief	-15 ^o dag
<u>C.p.platycephalus</u>	? [*]	21	zwak positief	-
<u>C. variegatus</u>	? [*]			
<u>C.p.platycephalus</u>	? [*]	68	positief	-
<u>C. variegatus</u>	? [*]			
<u>C.p.platycephalus</u>	120	28	negatief	-
<u>C. variegatus</u>	100			

* hierbij werden drie exemplaren van Acerina cernua gevoerd.

OLSON (1970) vond dat de duur van de infectie in de loop van de proefperiode korter werd. Hiermee komen gegevens uit Tabel XV overeen. De eerste infectie met Cotylurus p. platycephalus duurde 22 dagen, de tweede herinfectie slechts 10 dagen.

XII. Litteratuurlijst

- DUBOIS, G., 1968. Synopsis des Strigeidae et des Diplostomatidae (Trematoda). Première partie. Familia Strigeidae Railliet, 1919. Mém. Soc. neuchâtel. Sci. natur. 10 (1) : 1-258.
- FRETTER, V. & A. GRAHAM, 1962. British Prosobranch Molluscs (their functional anatomy and ecology) London. The Ray Society.
- JANSSEN, A. & E. De Vogel, 1965. Zoetwatermollusken van Nederland. Uitgave N.J.N., Amsterdam.
- KRIJGSMAN, J.A., 1971. Onderzoek aan spiering als oorzaak van het voorkomen van groepsgewijsvissende meeuwen in de Waddenzee, met systematische en populatie-dynamische gegevens over de spiering (Osmerus eperlanus L.) N.I.O.Z. publicaties en verslagen, nummer 1971-10.
- LINSTOW, O.v., 1877. Enthelminthologica. Arch. Naturgesch. 43 (1) : 173-190.
- NIEWIADOMSKA, K., 1969. Remarks on two species of the genus Cotylurus SZIDAT: C. platycephalus (CREPLIN, 1825) and C. cucullus (THOSS, 1897) (= C. communis (HUGHES, 1928)). - Bull. Acad. polon. Sci., Cl. II, Sér. Sci. biol. 17 (11-12) : 701-702..
- , 1970. On the validity of Cotylurus platycephalus (CREPLIN, 1825) and C. cucullus (THOSS, 1897) (= C. communis (HUGHES, 1928)) (Trematoda Strigeidae) Acta parasitol. - polon. 18 (6) : 57-70..

- ODENING, K., 1969. Zur Gliederung von Apatemon und Cotylurus (Trematoda, Strigeida) in Untergattungen. - Mber. dtsh. Akad. Wiss. Berlin 11 (4) : 285-292.
- ODENING, K., TH. MATTHEIS, & I. BOCKHARDT, 1970. Der lebenszyklus von Cotylurus c. cucullus (THOSS) (Trematoda, Strigeida) im Raum Berlin. - Zool. Jb., Abt. System., Ökol. Geogr. 97 : 125-198.
- ODENING, K. & I. BOCKHARDT, 1971. Der lebenszyklus des Trematoden Cotylurus variegatus im Spree - Havel - Seen - gebiet. - Biol. Zbl. 90 : 49-84.
- ODENING, K., 1971. Zur Artidentität von Cotylurus platycephalus, C. cucullus und C. communis. - Angew. Parasitol. 12 (2) : 79-85.
- OLSON, R.E., 1970. The life cycle of Cotylurus erraticus (RUDOLPHI, 1809) SZIDAT, 1928 (Trematoda, Strigeidae). - J. Parasitol. 56 (1) : 55-63.
- STANDER, O.D., 1951. Some observations upon the maintenance of Australorbis glabriatus in the laboratory. - Ann. Trop. Med. and Parasitol. 45 (1951) p. 80-83.
- SWENNEN, C., 1971. Een parasitaire besmetting als doodsoorzaak van zilvermeeuwen. - Meded. Hydrobiol. Ver. 5 (2) : p. 103-104.
- YAMAGUTI, S., 1958. Systema Helminthum. Vol. I. The digenetic trematodes of vertebrates, Part I, II. Interscience Publishers, New York - London.

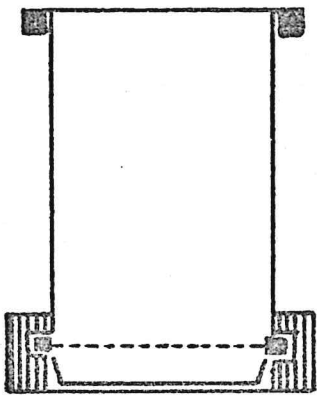


fig. 1

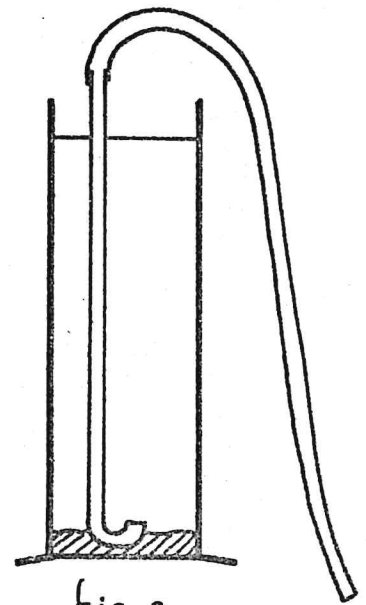


fig. 2

Fig. 4 Voorste segment van Cotylurus c. cucullus overlangs
(naar ODENING (1970, pag. 167)).

Fig. 5. Voorste segment van Cotylurus c. cucullus dwars
(naar THOSS (1897)). 1: wand van de kopbeker.

- 2: ventrale lob van het tribocytorgaan.
3: dorsale lob van het tribocytorgaan.
4: mondzuignap. 5: pharynx. 6: buikzuignap.
7: naar binnen gezogen weefsel van de gastheer
(naar ODENING (1970, pag. 167)).

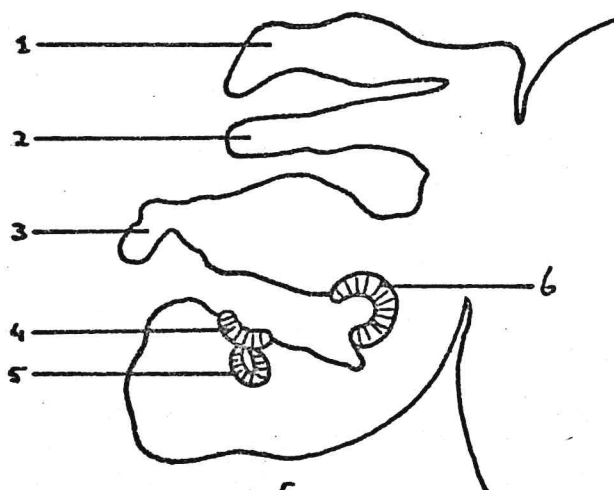


fig. 4

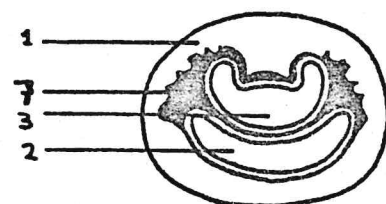
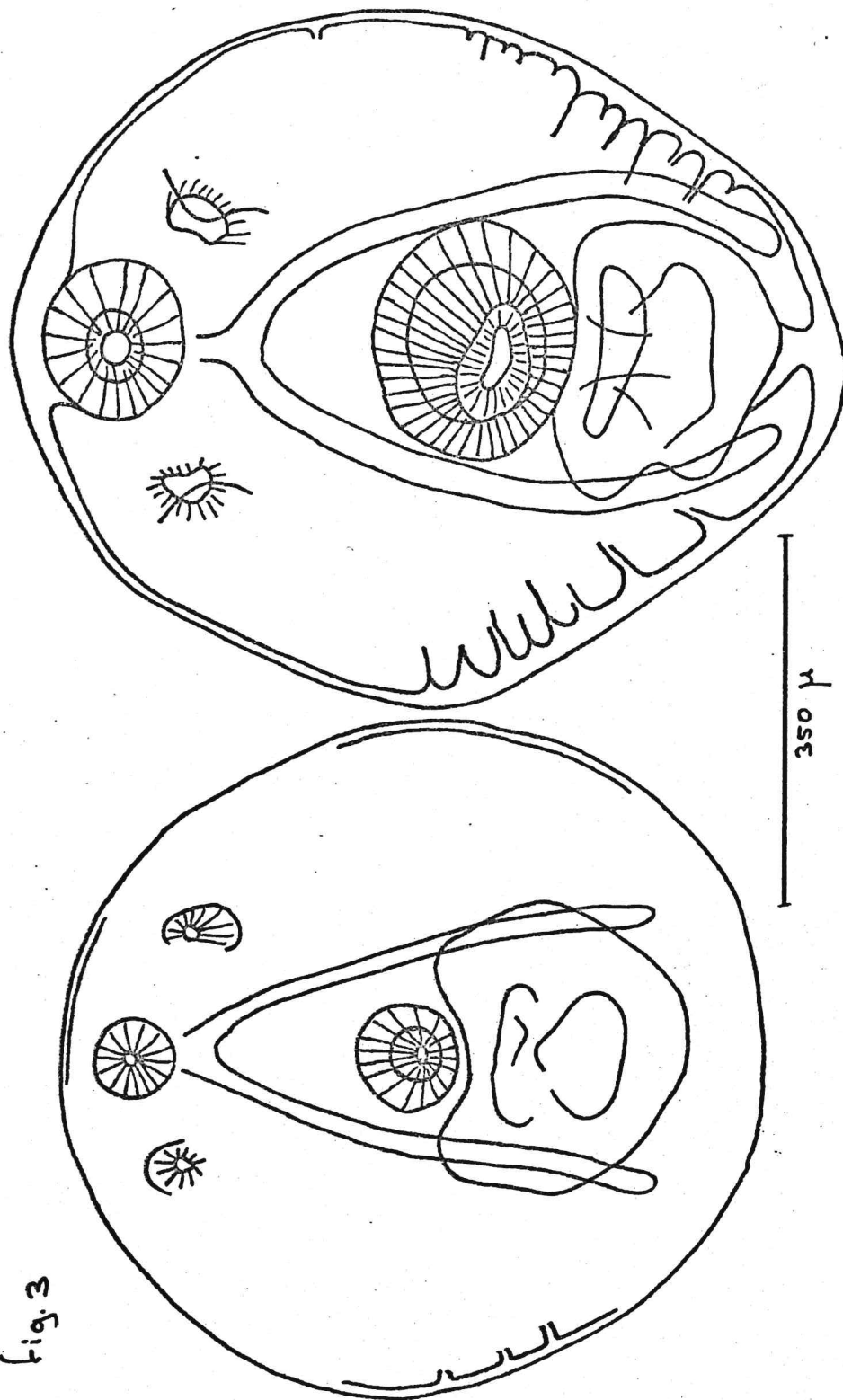


fig. 5

fig. 3



Tetracotyle percae-fluviatilis

(zwemblaaswand Acerina cernua)

Tetracotyle ovata

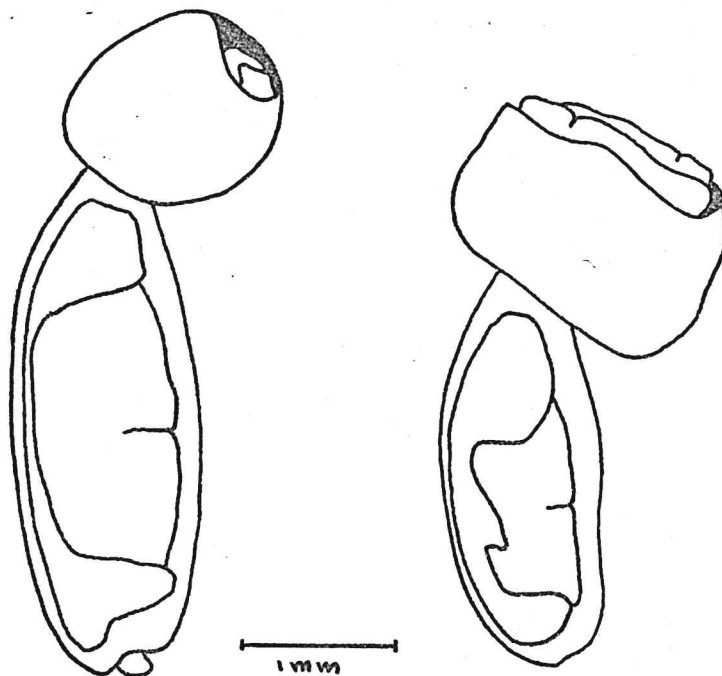
(Ingewanden Acerina cernua)

Tetracotyle intermedia

(hartzakje Osmerus eperlanus)

a. cystewand b. pseudozuignap c. mondzuignap d. buikzuignap e. tribocytorgaan f. tribocytorgaan g. tribocytorgaan h. tribocytorgaan

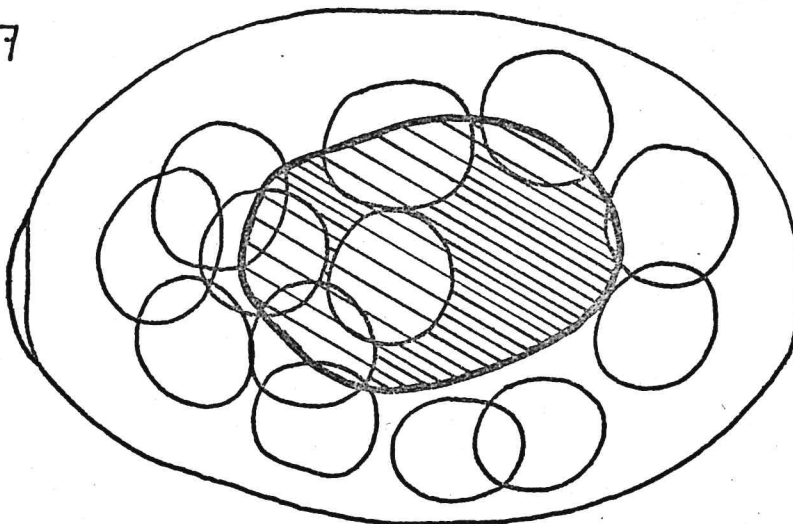
fig. 6



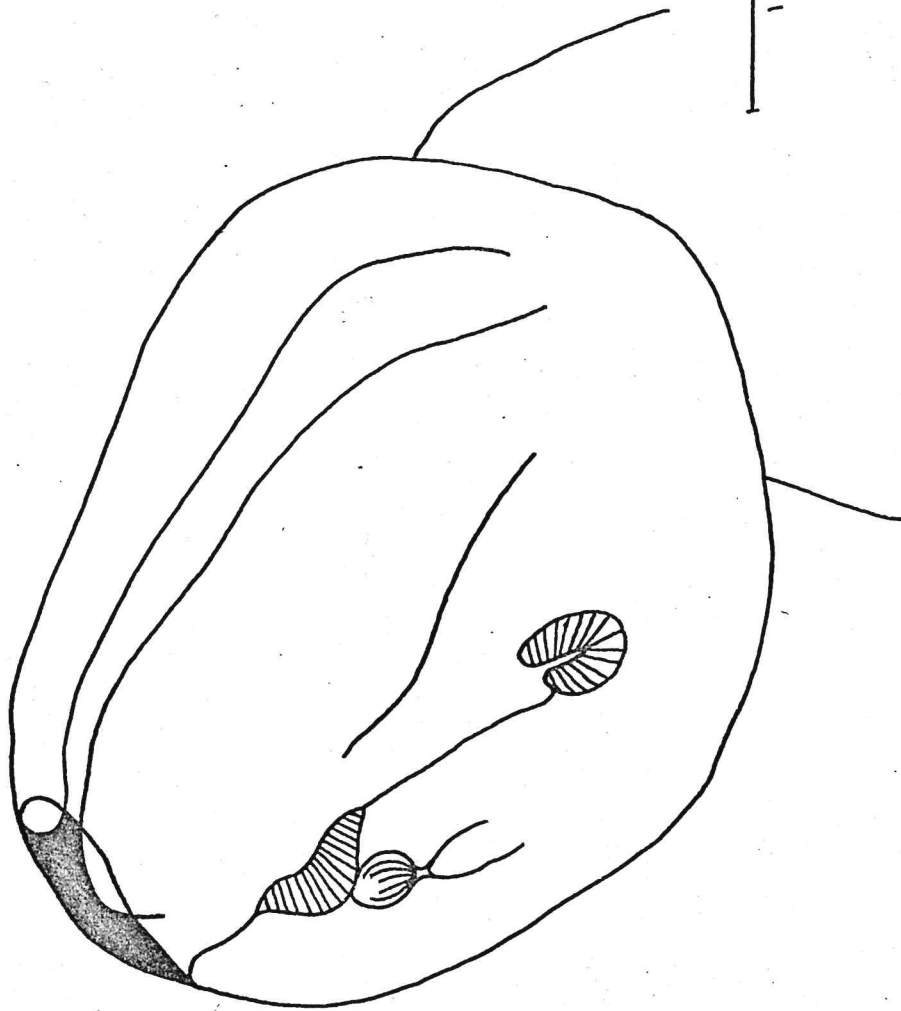
Cotylurus variegatus uit
dunne darm van Larus
argentatus (428)
(eksperimentele infectie)

C.p. platycephalus uit
kloaka van L. argentatus (430)
(eksperimentele infectie)

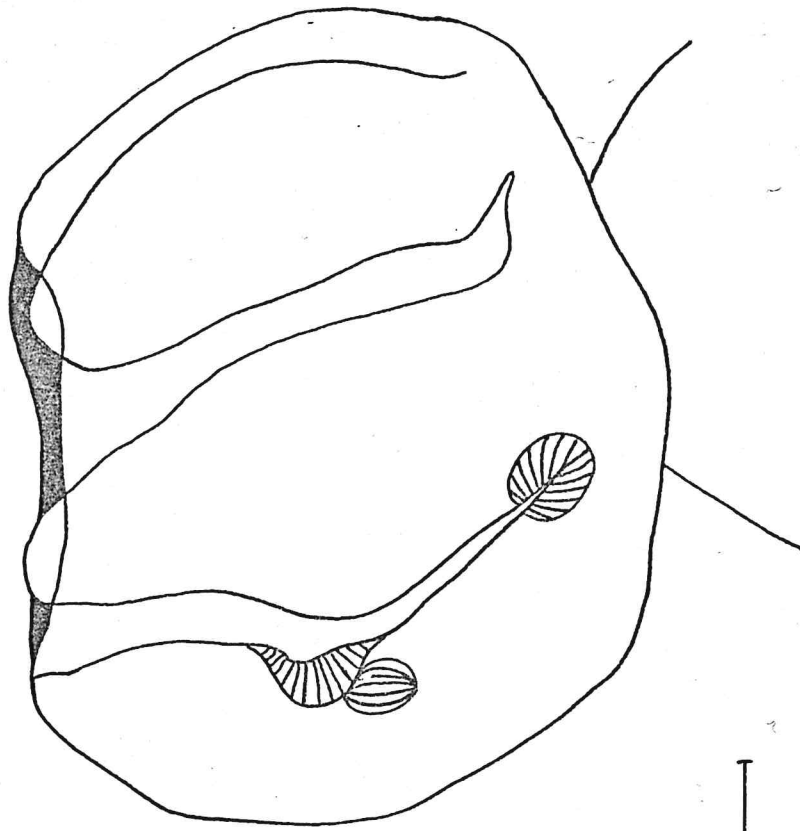
fig. 7



Eikapsel met embryo (13 dagen)
van Cotylurus p. platycephalus



Cotylurus variegatus uit dunne darm van
Larus argentatus (natuurlijke infectie)



C.p. platycephalus uit kloaka van
L. argentatus (natuurlijke infectie)

fig. 8

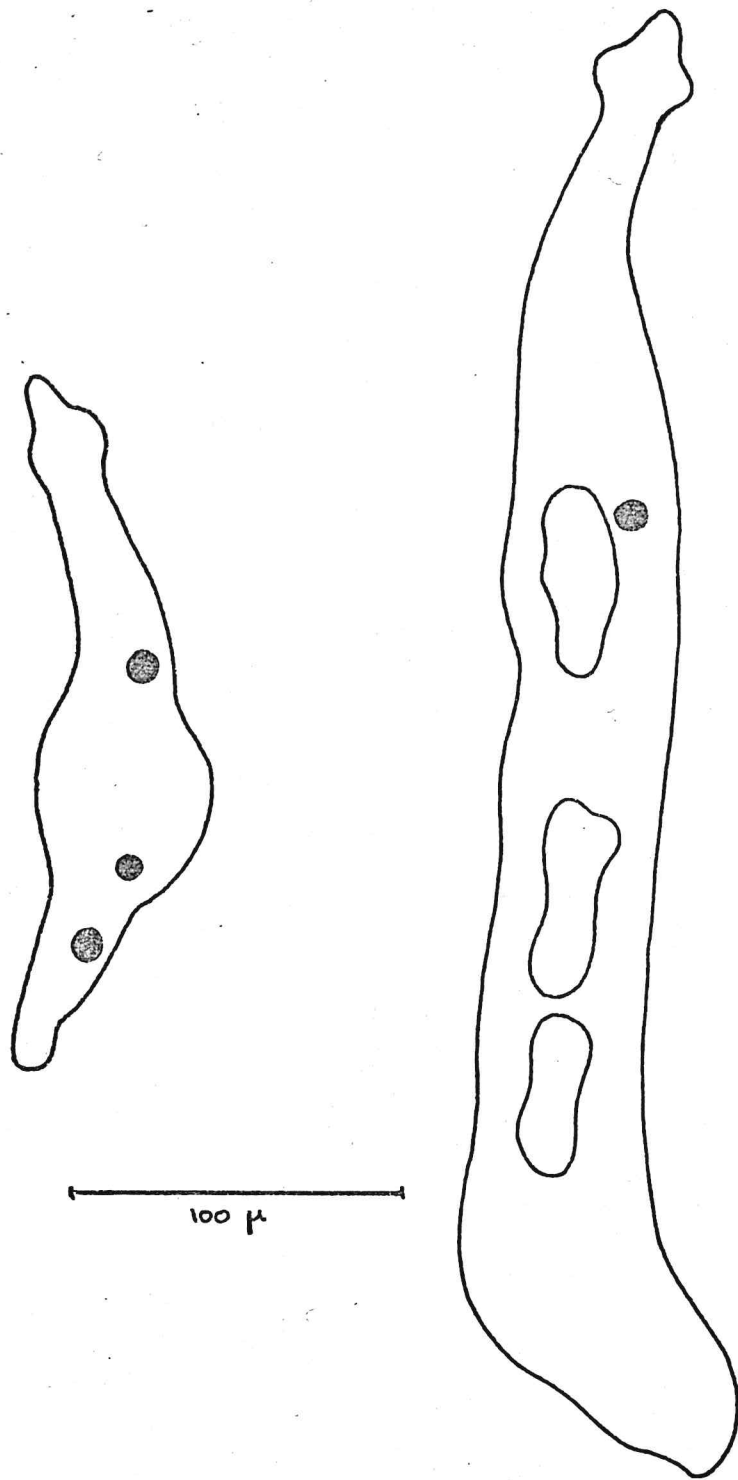


fig. 9 moeder sporocysten van Cotylurus p. platycephalus
12 dagen na infectie
(eksperimentele infectie van Valvata piscinalis)

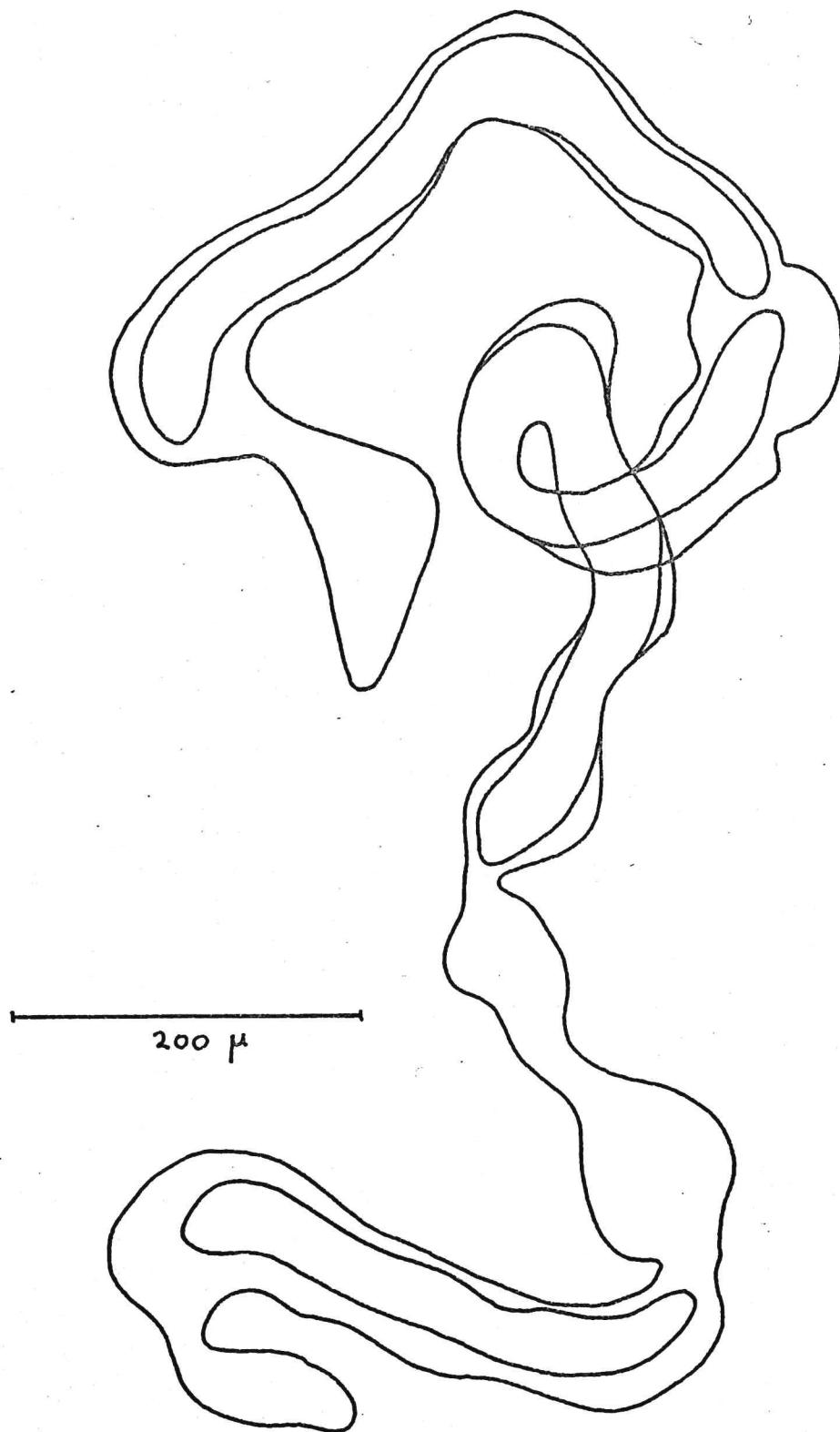


fig. 10 moedersporocyste met dochtersporocysten
van Cotylurus variegatus 11 weken na infectie
(eksperimentele infectie van Valvata piscinalis)

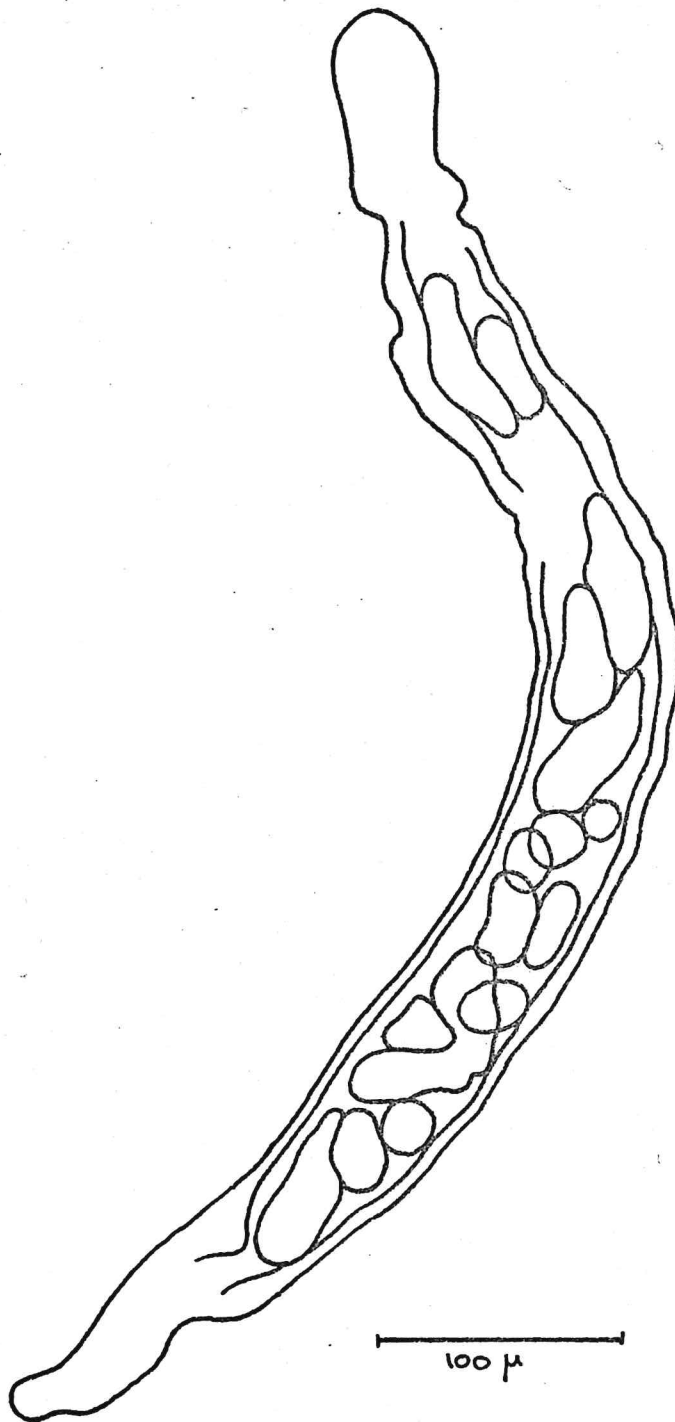


Fig. 11 dochtersporocyste van Cotylurus p. platycephalus
4 weken na infectie
(eksperimentele infectie van Valvata piscinalis)

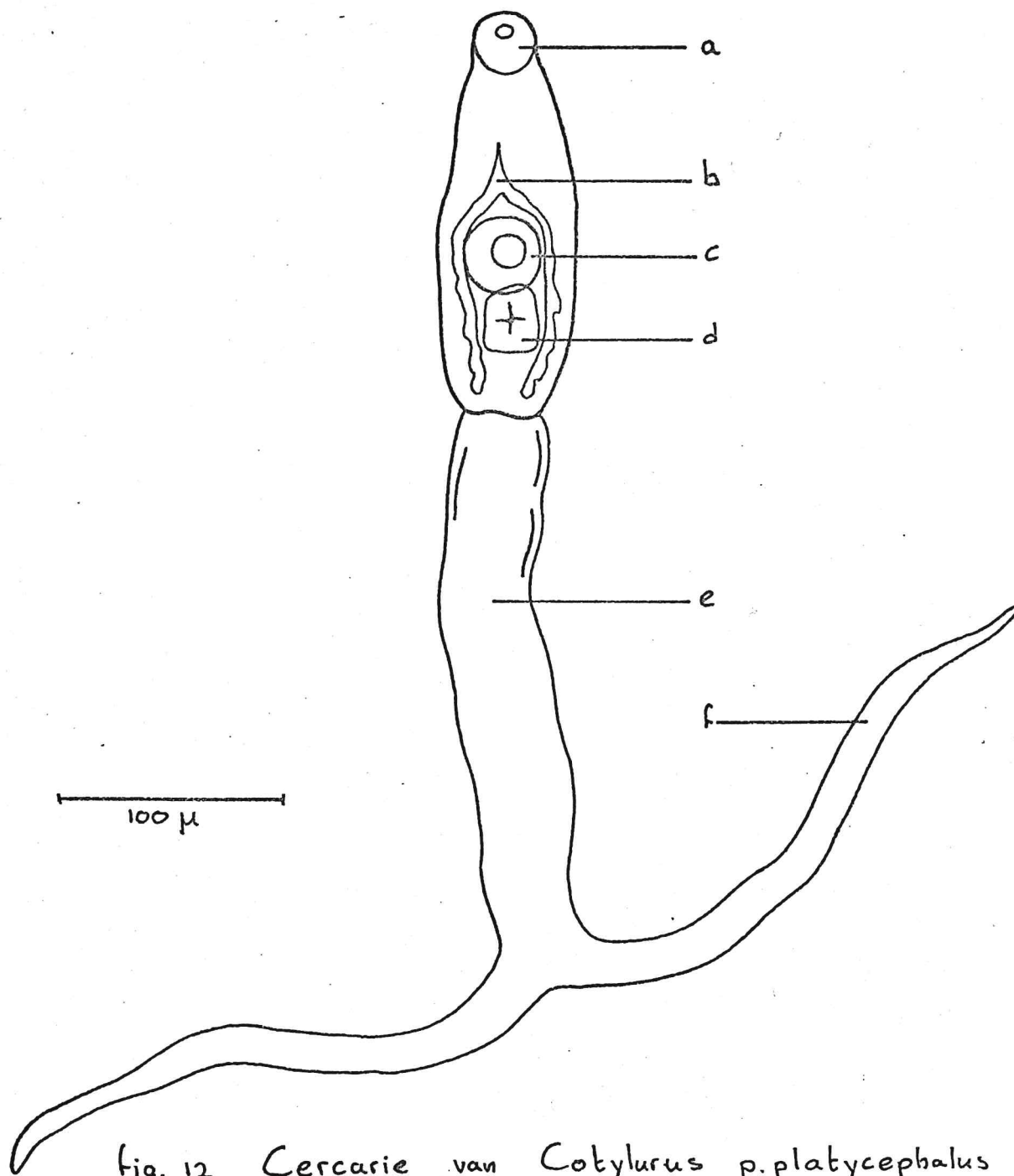


fig. 12 Cercarie van Cotylurus p. platycephalus
(eksperimentele infectie van Valvata piscinalis)

- a. mondzuignap
- b. darm
- c. buikzuignap
- d. boorklieren
- e. staartstam
- f. furca