

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DES *OPALINIDÆ*  
DES BATRACIENS DU BRÉSIL

Par A. CARINI

GENRE *OPALINA*

**Les opalines dans l'Amérique du Sud.** — Dans une courte note (1), présentée à la Société de Biologie de St-Paul, à la séance du 8 mai de l'année passée, nous signalions avoir rencontré, dans la dernière partie de l'intestin de différentes espèces d'*Hyla* du Brésil, quelques ciliés appartenant au genre *Opalina*.

La présence de ce genre n'avait pas encore été indiquée dans l'Amérique du Sud et l'on croyait même (Metcalf, Döflein, Reichenow, Wenyon) que ce genre manquait complètement dans ce continent. Nos constatations nous permettaient d'affirmer que la distribution géographique du genre *Opalina* s'étend aussi à l'Amérique du Sud.

Les opalines que nous avons rencontrées jusqu'à présent appartiennent toutes au groupe des *Opalinæ angustæ* et sont toutes assez voisines de l'espèce *Opalina obtrigona*.

**Difficultés dans la classification des espèces d'Opalines.** — Lorsque nous avons cherché à mieux classer nos Opalines, nous avons dû constater que les caractères morphologiques, tels que les dimensions et la forme du corps, la grandeur et le nombre des noyaux et des endosphérules, ne sont pas toujours suffisants pour caractériser les diverses espèces.

De nombreuses opalines, connues jusqu'à présent, ne peuvent pas être déterminées avec certitude.

La même opaline, chez les divers individus de la même espèce d'*Hyla*, ne présente pas toujours des aspects identiques et l'on observe souvent de notables variations dans les dimensions et la forme. L'observateur qui constate ce polymorphisme doute s'il a affaire à plusieurs espèces ou si les différences observées sont liées

(1) CARINI (A.). — Observations au sujet de la distribution géographique du genre *Opalina*. *C.R. Soc. de biol.*, CXX, 1935, p. 174.

à des facteurs spéciaux, comme l'âge ou l'état de nutrition du batracien, la date de l'infection, récente ou ancienne, etc.

Nous n'avons pas de données suffisantes pour affirmer que les opalines que nous avons rencontrées appartiennent sûrement à des espèces nouvelles, mais, d'autre part, il est difficile de les identifier à des espèces déjà connues.

Nous décrirons ici seulement quelques espèces que nous avons rencontrées fréquemment et que nous avons pu étudier à notre aise, de façon à acquérir la conviction qu'il s'agit, en effet, d'espèces différentes les unes des autres.

On ne tient pas compte d'autres opalines, moins caractéristiques, dont la présence a été vérifiée seulement dans quelques cas isolés ou chez des batraciens que nous n'avons pas pu déterminer.

Les batraciens que nous avons examinés provenaient tous de l'Etat de St-Paul.

Toutes les opalines que nous avons étudiées présentent la structure classique de ces ciliés, c'est-à-dire un corps plus ou moins aplati, recouvert de cils disposés en séries parallèles. Dans le cytoplasme il y a de nombreux noyaux et des endosphérules.

Dans presque toutes les opalines, on note l'existence d'une zone périphérique claire d'ectoplasme, parfois assez large et bien marquée, parfois plus mince et à peine visible.

Il n'est pas rare d'observer des formes larges qui présentent un sillon au milieu, commencement d'une division binaire longitudinale.

Le nombre de batraciens examinés pendant ces cinq dernières années atteint plusieurs centaines et des milliers de préparations ont été étudiées.

**Technique employée.** — Les batraciens de différentes espèces peuvent être conservés en captivité pendant plusieurs semaines ; ils supportent un jeûne prolongé, mais il est absolument nécessaire de les conserver dans un milieu assez humide, aéré et très propre. Nous recommandons aux personnes qui nous envoient des batraciens, d'endroits éloignés du laboratoire, de les placer dans des caisses en bois, au milieu de mousse ou de feuilles vertes bien humides.

Au laboratoire, nous gardons les petites *Hyla* dans des bocaux à large ouverture, fermés à l'aide d'une toile métallique. Les bocaux sont lavés tous les jours, en ayant soin de laisser toujours dans le fond du récipient, un peu d'eau, de façon à y entretenir un certain degré d'humidité.

Quand on veut étudier les ciliés de l'intestin, il est préférable de

sacrifier et d'examiner les animaux peu de temps après leur capture. Chez les batraciens gardés au laboratoire pendant longtemps, les ciliés présentent fréquemment des altérations et il n'est pas rare qu'on les trouve morts ou dégénérés.

La mort instantanée des batraciens est obtenue par piqûre du bulbe avec une aiguille robuste. On ouvre l'abdomen, on retire la dernière partie de l'intestin et par deux coups de ciseaux on sépare le sac fécal. Celui-ci est ouvert sur une lame. Une petite quantité du contenu, examinée au microscope avec un faible grossissement, montrera s'il y a ou non des ciliés. Lorsqu'il y en a, ils sont généralement très nombreux. On prépare alors avec le matériel des frottis sur lamelles, qu'on fixe humides au Schaudinn ou au Bouin. Il convient de ne pas diluer le matériel afin qu'il reste adhérent aux lamelles.

Comme colorants, nous avons employé diverses solutions d'hématoxyline (Ehrlich, Delafield, Carazzi), avec différenciation à l'acide chlorhydrique dilué et l'hématoxyline ferrique, de préférence suivant la technique de Dobell.

#### OPALINES D'*Hyla faber*

Pendant ces dernières années, nous avons examiné quelques douzaines d'*Hyla faber*. Nous avons trouvé des Opalines qui nous semblent appartenir à deux espèces différentes :

*Opalina faber* n. sp. — Cette opaline se rencontre fréquemment et nous l'avons trouvée plusieurs fois, toujours avec les mêmes caractères.

Le corps en est aplati, allongé, légèrement recourbé. Les dimensions varient entre des limites assez étendues. La plupart des individus adultes mesurent de 150 à 200  $\mu$  de longueur et les plus grands arrivent à 300  $\mu$ . La largeur aussi peut varier ; quelques individus relativement fins mesurent de 30 à 40  $\mu$  de largeur ; d'autres plus gros arrivent à 60-70  $\mu$  et même davantage.

Les spécimens larges ont souvent un aspect fusiforme, c'est-à-dire qu'ils présentent le maximum de largeur au milieu ; l'extrémité postérieure est généralement fine et pointue.

Dans les formes larges, il y a jusqu'à 7 à 9 rangées de noyaux ronds.

La figure 1 montre trois opalines d'aspect moyen : une forme longue et fine de  $285 \times 44 \mu$ , une large et fusiforme de  $228 \times 80 \mu$  et une avec un commencement de division longitudinale.

En observant cette opaline vivante, nous avons constaté parfois, à l'extrémité antérieure, la présence d'un petit épaississement de

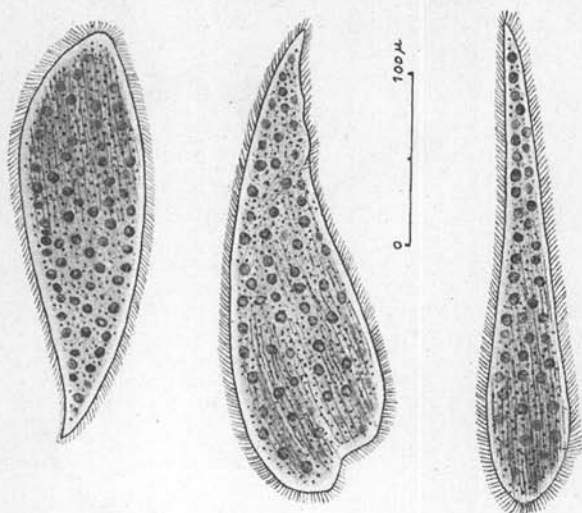


FIG. 1. — *Opalina faber* d'*Hyla faber*.

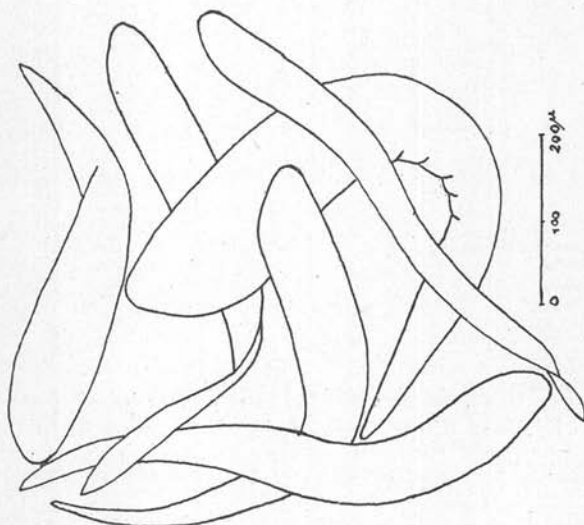


FIG. 2. — *Opalina elongata* d'*Hyla faber*.

la membrane sous forme d'un petit bouton saillant qui, avec les mouvements du cilié, devient tantôt plus évident, tantôt invisible.

Dans les préparations fixées et colorées, cette particularité de structure n'est pas si évidente et l'on note tout au plus chez certains individus un léger épaissement de la membrane au pôle antérieur.

***Opalina elongata* n. sp.** — Cette opaline a été rencontrée seulement chez deux exemplaires d'*Hyla faber* que nous avons reçus de Tiété à la fin du mois de mars de cette année. L'opaline était en nombre considérable, associée à un *Nyctotherus*.

Cette opaline est la plus grande de celles que nous avons observées jusqu'à présent ; elle atteint, en moyenne, de 500 à 620  $\mu$  de longueur (fig. 2).

Le maximum de largeur, qui s'observe tout près de l'extrémité antérieure, est en général de 50 à 60  $\mu$ . Les plus larges arrivent à 80-100  $\mu$  de largeur.

Le corps est bien aplati, allongé et finit en pointe fine, mais non aiguë.

Les noyaux sont bien évidents, arrondis, disposés sur 4 à 5 rangées chez les individus fins, mais on compte jusqu'à dix rangées chez les plus larges.

Les endosphérules sont aussi très nombreuses.

#### OPALINES D'*HYLA NEBULOSA*

Le nombre d'exemplaires examinés d'*Hyla nebulosa* s'élève à plus d'une centaine. Les opalines que l'on rencontre semblent appartenir à deux espèces :

***Opalina nebulosa* n. sp.** — Un bon pourcentage des *Hyla* examinées en hébergeait parfois un nombre considérable.

Le corps est allongé, légèrement recourbé avec un aspect de virgule ; la largeur maxima s'observe près de l'extrémité antérieure ; le corps s'amincit ensuite et finit en une pointe, généralement obtuse. Le contour de l'extrémité antérieure n'est pas uniformément arrondi, étant d'un côté coupé obliquement un peu en forme de bec de clarinette.

En observant le cilié lorsqu'il est en mouvement, il est facile de constater que le corps est aplati ; son épaisseur est à peu près d'un tiers de la largeur.

Les différents individus présentent de notables variations dans la longueur et la largeur et l'on rencontre des formes longues, courtes, fines et trapues.

Les individus qui paraissent bien développés mesurent en moyenne de 200 à 250  $\mu$  de longueur, mais quelques-uns arrivent à 300  $\mu$ .

La largeur est de 40 à 50  $\mu$ , mais il y a des formes plus larges qui atteignent jusqu'à 70 et 80  $\mu$ .

A la périphérie du cilié, est fréquemment visible un bord étroit plus clair d'ectoplasme.

Dans le protoplasme, on note de nombreux noyaux arrondis de 3,5 à 5  $\mu$  de diamètre, irrégulièrement distribués sur 4 à 6 rangées

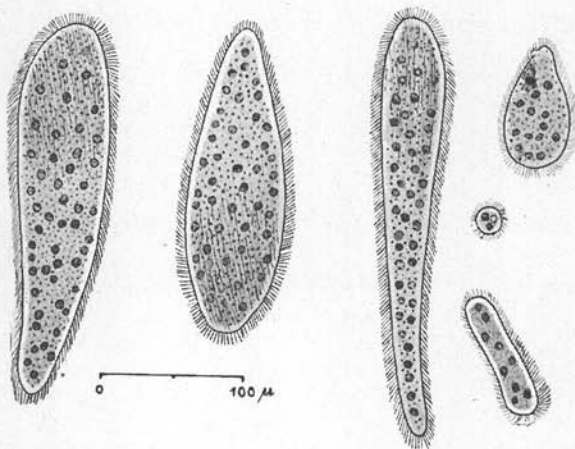


FIG. 3. — *Opalina nebulosa* d'*Hyla nebulosa*.

longitudinales. Il n'est pas rare de rencontrer quelques noyaux en voie de division.

Il y a aussi de nombreuses endosphérules, sous forme de petites granulations, fortement colorées par l'hématoxyline.

Chez une de ces *Hyla*, examinées au commencement du mois d'avril 1933, nous avons rencontré, à côté d'opalinines adultes, un grand nombre de formes plus petites, quelques-unes arrondies, d'à peine 10-15  $\mu$  de diamètre, avec seulement 2 à 3 noyaux ; d'autres un peu plus grandes, ovales, piriformes, allongées, etc., avec un nombre variable de noyaux. Entre les formes plus petites et les adultes, il y a toute une gamme de formes intermédiaires. Il s'agissait certainement d'une infection très récente, dans laquelle les opalinines jeunes étaient en voie d'évolution.

Dans la figure 3 sont représentées trois opalinines adultes et trois formes plus petites.

*Opalina rugosa* n. sp. — Au mois de novembre 1932, nous avons trouvé pour la première fois, chez une *Hyla nebulosa* encore bien jeune, une opaline peu mobile, qui nous semble différente des autres. Ensuite, malgré les nombreux examens, cette opaline n'a été retrouvée qu'une ou deux fois.

Le corps, généralement droit ou seulement très peu recourbé, est très légèrement aplati (1) et mesure de 270 à 320  $\mu$  de longueur sur 30 à 45  $\mu$  de largeur.

L'extrémité antérieure est un peu plus large que la postérieure qui est obtuse.

Cette opaline présente à sa surface de nombreuses rugosités qui

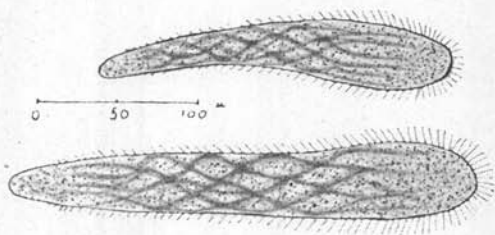


FIG. 4. — *Opalina rugosa* d'*Hyla nebulosa*, d'après des spécimens vivants, sans coloration.

commencent peu après l'extrémité antérieure et s'étendent jusque près de la postérieure.

Dans le tiers antérieur, les rugosités sont plutôt linéaires, longitudinales, mais après, elles s'entrelacent, formant une espèce de tresse, ainsi qu'on peut le voir sur le dessin ci-joint fait d'après nature (fig. 4).

Cet aspect rugueux, bien caractéristique, a été vérifié toujours dans les meilleures conditions d'observation, c'est-à-dire sur des opalines vivantes, examinées tout de suite après les avoir retirées de l'intestin ; toutefois, en vue du nombre très réduit de nos observations, il nous reste encore quelques doutes et il s'agit peut-être d'une altération artificielle due à une rétraction du protoplasme pour une cause qui nous a échappé.

(1) Le corps est si peu aplati que l'on pourrait se demander s'il s'agit d'une *Opalina* ou d'une *Cepedea*.

OPALINES D'*HYLA RUBRA*

Certainement plusieurs centaines d'*Hyla* de cette espèce ont été examinées.

La présence d'opalinés dans la dernière partie de l'intestin est très fréquente.

Les opalinés ne présentent pas toujours le même aspect ni les mêmes dimensions ; suivant les cas, il y a de notables variations.

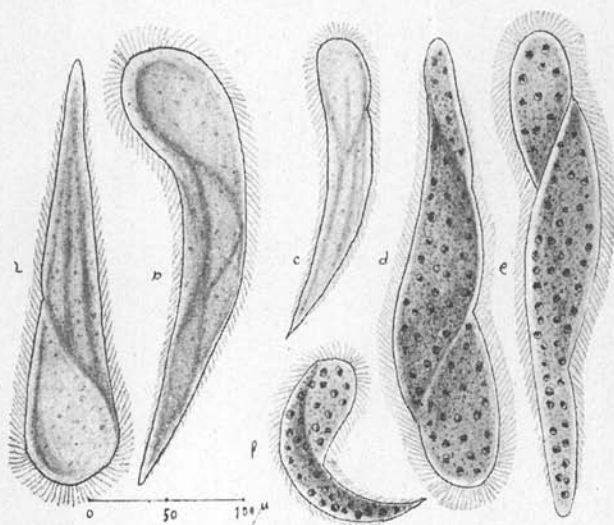


FIG. 5. — *Opalina rubra* d'*Hyla rubra* : a, b, c, d'après des individus vivants ; d, e, f, après coloration à l'hématoxyline ferrique.

Il est ainsi assez difficile d'établir s'il s'agit d'une unique espèce d'opaline, assez polymorphe, ou si l'*Hyla rubra* peut héberger plusieurs espèces d'opalinés.

N'ayant pu résoudre cette question, nous nous bornerons à la description d'une opaline que nous avons vue très fréquemment et qui présente une forme assez typique et constante.

***Opalina rubra* n. sp.** — Le corps de cette opaline est bien aplati, allongé, et montre, surtout lorsqu'on l'observe à l'état vivant, différents plis longitudinaux superficiels. Dans les préparations colorées ces plis sont à peine perceptibles.

Dans la figure 5 sont représentées par a, b, c, trois opalinés

observées vivantes, sans coloration, et par *d, e, f*, trois autres, après coloration par l'hématoxyline ferrique.

A la périphérie, la zone claire homogène d'ectoplasme est souvent assez large (7 à 9  $\mu$  de chaque côté) et très évidente.

Parfois les opalines présentent une légère teinte jaunâtre.

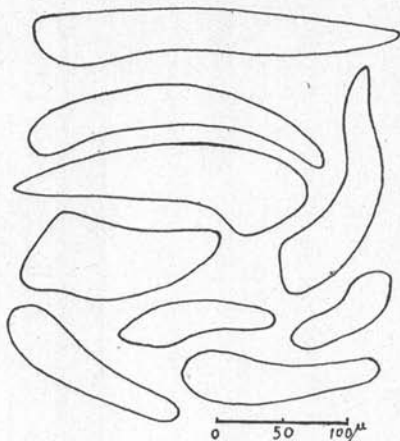


FIG. 6. — Opaline d'*Hyla rubra*.

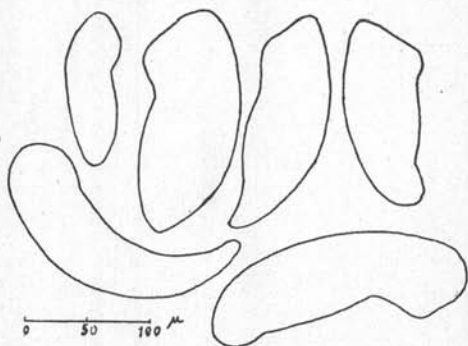


FIG. 7. — Opaline d'*Hyla rubra*, formes larges et trapues.

La longueur moyenne est d'environ 200 à 300  $\mu$ , mais on observe des individus plus petits et d'autres plus grands ; ces derniers peuvent arriver à 350  $\mu$ .

La largeur des individus adultes est de 50 à 70  $\mu$ .

Les cils, nombreux sur la partie antérieure du corps, paraissent disparaître près de l'extrémité postérieure.

Les noyaux, grands, ronds, sont disposés sur plusieurs rangées ; les endosphérules sont nombreuses.

Cette opaline paraît assez polymorphe ; chez quelques *Hyla* on observe une grande variété de formes : grandes et petites, larges et trapues, longues et fines, les unes à côté des autres (voir figure 6, laquelle montre quelques spécimens tirés d'une préparation faite le 14 novembre 1934).

Chez d'autres *Hyla*, on trouve presque seulement des individus larges et trapus qui présentent près de l'extrémité antérieure une espèce d'étranglement circulaire, semblable à celui qui a été décrit

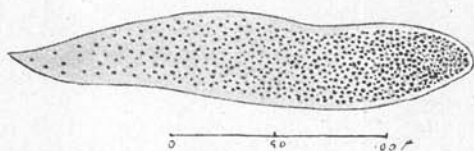


FIG. 8. — Opaline d'*Hyla rubra*, après coloration à l'hématoxyline ferrique. Les endosphérules sont intensément colorées, tandis que les noyaux sont invisibles.

chez l'*Opalina discophrya* (voir figure 7, dont les spécimens ont été dessinés d'après une même préparation du 23 mars 1932).

Nous devons encore mentionner avoir parfois rencontré chez l'*Hyla rubra* des opalines qui, après coloration par l'hématoxyline ferrique, montraient seulement de nombreuses grosses endosphérules fortement colorées, tandis que les noyaux étaient invisibles (fig. 8). Les endosphérules sont plus nombreuses dans la partie antérieure du cilié où elles sont entassées les unes près des autres ; elles vont en se raréfiant à mesure qu'on s'approche de l'extrémité postérieure.

Il se peut que ce défaut de coloration des noyaux soit dû à une technique défectueuse, mais il n'est pas à exclure que cela tienne à une propriété particulière des noyaux de certaines opalines.

#### OPALINES D'*Hyla RADDIANA*

Nous avons examiné un nombre très réduit d'*Hyla* de cette espèce.

Chez l'une d'elles, nous avons rencontré en grande quantité une opaline qui, par les dimensions, paraît différente de celles que nous avons décrites.

*Opalina raddiana*. n. sp. — Le corps est fortement aplati, souvent recourbé.

La longueur moyenne est de 300 à 350  $\mu$ , mais les individus qui atteignent 400 à 450  $\mu$  ne sont pas rares.

Les formes fines ont une largeur de 40  $\mu$ ; chez les formes moyennes la largeur est de 60  $\mu$  et chez les plus larges, elle peut atteindre 80  $\mu$ .

Les noyaux sont ronds, de 5 à 6  $\mu$  de diamètre, les endosphérules grosses et nombreuses.

La membrane est fine et permet au cilié de se déformer facilement.

#### OPALINA D'HYLA LEUCOPHYLLATA

*Opalina mogyana* n. sp. — Cette opaline a été vue une seule fois chez une *Hyla leucophyllata*, capturée à Mogy das Cruzes (Etat de St-Paul).

Le corps est fortement aplati, présente la forme d'une virgule et mesure de 140 à 170  $\mu$  de longueur sur 30 à 40  $\mu$  de largeur.

Les extrémités sont obtuses, l'antérieure plus large est recourbée.

Lorsqu'on observe le cilié vivant, on note sur la surface du corps de nombreuses et fines lignes, très rapprochées les unes des autres; elles ne sont pas parallèles à l'axe du corps, mais dirigées un peu transversalement.

Les noyaux sont arrondis de 4  $\mu$  de diamètre, disposés sur 3 ou 4 rangées. Parmi les noyaux, il y a de nombreuses endosphérules.

#### RÉSUMÉ

Description de sept espèces nouvelles du genre *Opalina*, trouvées au Brésil dans l'intestin de batraciens du genre *Hyla* :

Chez *Hyla faber* : *Opalina faber* n. sp.

*Opalina elongata* n. sp.

Chez *Hyla nebulosa* : *Opalina nebulosa* n. sp.

*Opalina rugosa* n. sp.

Chez *Hyla rubra* : *Opalina rubra* n. sp.

Chez *Hyla raddiana* : *Opalina raddiana* n. sp.

Chez *Hyla leucophyllata* : *Opalina mogyana* n. sp.

Laboratorio paulista de Biologia, São Paulo (Brésil).