

Aus dem Institut für Schiffs- und Tropenkrankheiten Hamburg (Direktor Geheimrat FÜLLEBORN), Protozoologische Abteilung (Vorsteher Prof. REICHENOW).

# Die Glykogenreaktionen nach BEST und nach BAUER, in ihrer Anwendung auf Protozoen.

Von

Dr. Arnaldo Giovannola (Rom).

(Hierzu 3 Textfiguren.)

---

## Einleitung.

Ziel der Untersuchung war einestheils die bekannte BEST'sche Glykogenfärbung und andertheils die neue Polysaccharidreaktion nach BAUER in ihrer Anwendungsmöglichkeit auf Protozoen zu studieren. Bei den verschiedenartigen Polysacchariden, welche bei Protozoen vorkommen, bestand die Möglichkeit eines verschiedenartigen Ergebnisses beider Methoden.

## Material und Technik.

In den Kreis der Untersuchungen wurden die folgenden Protozoen eingezogen:

1. Sporozoen: *Eimeria falciformis*, *Eimeria Stiedae*, eine *Monocystis*-Art aus der Samenblase des Regenwurms, *Gregarina polymorpha*, *cuneata* und *Steini* aus dem Mehlwurm.

2. Flagellaten: *Trichomonas muris* und Trichomonaden aus einer Puffotter und aus einer Kupferboa.

3. Rhizopoden: Verschiedene freilebende Amöben und *Endolimax nana*.

Es wurden theils Ausstriche, theils Schnittpräparate untersucht. Die Fixierung wurde mit der CARNOY'schen Flüssigkeit vorgenommen. Vor der Färbung wurden die Präparate mit einer dünnen Celloidin-

lösung überschichtet, wodurch die Löslichkeit des Glykogens herabgesetzt werden soll. Hierauf wurde entweder in der üblichen Weise nach BEST gefärbt, die Kernfärbung erfolgte mit DELAFIELD'schem Hämatoxylin. Oder die Färbung geschah nach der BAUER'schen Methode, die, als noch weniger bekannt, hier kurz angeführt sei: 1) Überführen der Präparate aus Wasser für 1 Stunde in 4 proz. Chromsäure in der Dunkelheit, 2) Auswaschen in laufendem Wasser, 3) 30 Minuten fuchsinschweflige Säure (WERMEL'sches Reagens), 4) Auswaschen in schwefeldioxydhaltigem Wasser und anschließend in laufendem Wasser, 5) kurze Färbung in DELAFIELD'schem Hämatoxylin. Zu den beiden Reaktionen wurden Kontrollen ausgeführt, indem vorhergehend 1 Stunde bei 37° C mit Speichel behandelte Präparate in der beschriebenen Weise gefärbt wurden.

### Beobachtungen.

1. *Eimeria Stiedae* und *Eimeria falciformis*. Von ersterer Art wurden zunächst die Entwicklungsstadien auf Schnittpräparaten untersucht. Es ergab sich, daß die Schizogonieförmigen, die Microgametocyten und die jungen Macrogameten nur einen geringen Glykogengehalt hatten, während sich reichliche Mengen von Glykogen in den älteren Macrogameten und vor allem in den Oocysten fanden. Dieses Glykogen war durch Speichel leicht verdaubar. In Hinsicht auf die Färbbarkeit ergab sich, daß das Eimerienpolysaccharid in den BEST-Präparaten im Gegensatz zu dem leuchtend roten Farbton des Glykogens der benachbarten Leberzellen eine nur schwache mattrosa Färbung annahm. In den mit der BAUER'schen Methode gefärbten Schnitten zeigte sich zwar auch ein Unterschied im Farbton, aber die Färbung der Parasiten war im Gegensatz zu den Befunden an den BEST-Präparaten außerordentlich kräftig. Weiterhin wurden sowohl unreife wie reife Oocysten von *Eimeria Stiedae* und *falciformis* untersucht. Es war immer Glykogen nachzuweisen, wenn es auch den Eindruck machte, daß der Glykogengehalt der Sporozoitcn nur ein relativ geringer war. Unterschiede zwischen den beiden Parasitenarten ergaben sich nicht, die Färbungsintensität bei Verwendung der beiden Methoden war die gleiche, wie eben für die Entwicklungsstadien beschrieben wurde.

2. *Monocystis* sp. Bei den vegetativen Gregarinen ist das Polysaccharid in Form von länglichen oder ovalen Körnchen abgelagert, die mit Jod eine außerordentlich intensive Braunfärbung annehmen. Gegen die Einwirkung von Speichel sind sie sehr widerstandsfähig. Einstündiger Aufenthalt im Speichel bei 37° C erwies sich als fast

wirkungslos, die Polysaccharidkörnchen waren vielleicht etwas kleiner und schlechter färbbar, aber keineswegs gelöst worden. Während die Körnchen mit dem BEST'schen Karmin sich nur ganz schwach rosa färbten, ergab sich mit der BAUER'schen Methode eine sehr



Fig. 1.

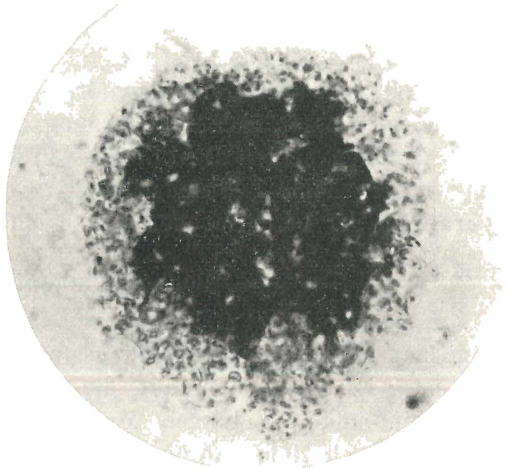
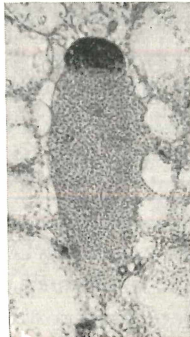


Fig. 2.



a



b

Fig. 3.

distinkte und kräftige Färbung derselben (Fig. 1). Die größte Glykogenanhäufung war bei frisch encystierten Tieren zu beobachten. Im Laufe der weiteren Entwicklung nahm es ab, doch war im Verlaufe der Gametenbildung im Restkörper sehr viel Polysaccharid vorhanden (Fig. 2). Dieses fand sich auch in den Sporen und Sporozoiten immer noch, wenn auch meist nur in geringer Menge.

3. Gregarinen aus dem Mehlwurm. Bei den verschiedenen untersuchten Gregarinenarten war das Polysaccharid gleichfalls in Körnchenform abgelagert, wenn diese auch kleiner erschienen als bei der Form aus dem Regenwurm. Die Hauptmenge fand sich im Deutomeriten, während der Reservestoff im Protomeriten nur in

geringerer Menge vorhanden war. Das Polysaccharid war gegen Speichelwirkung gleichfalls recht widerstandsfähig, wenn auch der Eindruck gewonnen wurde, daß bei kleineren Exemplaren eine gewisse Lösung stattgefunden habe (vgl. Fig. 3 a u. b).

In bezug auf die Färbbarkeit ergaben sich unerwarteterweise gewisse Unterschiede zwischen den einzelnen Arten. Bei *Gregarina polymorpha* und *cuneata* fand sich in Übereinstimmung mit den bisher wiedergegebenen Befunden eine relativ schlechte Darstellbarkeit mit dem BEST'schen Karmin, während die Färbungsergebnisse mit der BAUER'schen Methodik sehr zufriedenstellende waren. Merkwürdigerweise lagen die Verhältnisse bei *Gregarina Steini* gerade umgekehrt. Wie aus der Fig. 3 a hervorgeht, ist das Färbungsergebnis der BEST'schen Methode hier ein vorzügliches, das Polysaccharid erscheint leuchtend rot im Gegensatz zu der mit Speichel behandelten Kontrolle (Fig. 3 b). Bei den stark gefärbten Anhäufungen im Protoziten handelt es sich nicht um Polysaccharid, sondern um durch Hämatoxylin dargestelltes Volutin. Die andere Methode versagte zwar nicht völlig, lieferte aber nur einen schwach roten Farbton, der bei der Gegenfärbung mit Hämatoxylin fast völlig verschwand.

4. *Trichomonas*. Es wurden einmal Ausstrichpräparate von *Trichomonas muris* untersucht, wobei sich mit der BAUER'schen Technik keinerlei Färbung erzielen ließ. Ein auffälliges Resultat ergab die Untersuchung der BEST-Präparate. Hier zeigte das Protoplasma des Körpers zwar keinerlei Hinweis auf eine Polysaccharidspeicherung, wohl aber war der Achsenstab leuchtend rot gefärbt, und zwar bei sämtlichen vorhandenen Individuen. Eine weitere Klärung dieses Befundes scheint notwendig zu sein, bevor hieraus Schlüsse gezogen werden können.

Ein ganz anderes Bild ergaben die Trichomonaden aus der Kupferboa und der Puffotter. Diese stammten aus Kulturen und hatten reichlich Gelegenheit, Reisstärke aufzunehmen. Ihr Protoplasma erwies sich bei Untersuchung von BEST-Präparaten geradezu als mit Glykogen überhäuft. Außer dem blaugefärbten Kern war von Strukturelementen des Körpers nichts zu bemerken, da die massive Glykogenfärbung sämtliche Einzelheiten überdeckte. Außerdem zeigte es sich, daß bei den meisten Exemplaren sich auch außerhalb des Körpers ein Glykogenring gebildet hatte. Es ist dies offensichtlich ein Hinweis darauf, daß trotz der Übersichtung mit Celloidin ein Teil des hier offenbar sehr leicht löslichen Glykogens während der Kernfärbung und des anschließenden Auswaschens aus dem Körper herausdiffundiert war. Diese Deutung wird um so

wahrscheinlicher, wenn man den Ausfall der BAUER'schen Reaktion berücksichtigt. Mit dieser war nämlich im Körper der Flagellaten keinerlei Glykogenfärbung zu erzielen, während die aufgenommenen Stärkekörner die von BAUER beschriebene rote Färbung angenommen hatten. Es ist nicht zu bezweifeln, daß das Glykogen, bevor es durch die Chromsäurebehandlung unlöslich geworden war, völlig aus dem Körper herausgelöst wurde.

5. Rhizopoden. Die untersuchten Formen, einesteils freilebende, auf Agar gezüchtete Amöbenarten, anderenteils vegetative Exemplare von *Endolimax nana*, wiesen bei keiner der angewendeten Methoden Anhaltspunkte für die Speicherung von Polysacchariden auf.

### Zusammenfassung.

Die mitgeteilten Untersuchungen ergaben einmal, daß die neue Polysaccharidreaktion von BAUER bei manchen Protozoenarten der BEST'schen Färbung überlegen ist, und zwar scheint es sich dabei um Fälle zu handeln, bei denen ein schwer lösliches Polysaccharid (Paraglykogen) abgelagert wird. Allerdings kommen, wie die Untersuchung von *Gregarina Steini* ergab, Ausnahmen vor. Andererseits zeigte es sich (*Trichomonas* aus der Kultur), daß die BAUER'sche Methodik beim Vorliegen einer leicht löslichen Glykogenmodifikation völlig versagen kann. Bei Anwendung derselben auf ein unbekanntes Objekt empfiehlt sich demnach, noch andere Polysaccharidreaktionen heranzuziehen, bevor man negative Schlüsse zieht.

Die Untersuchung der Polysaccharidverhältnisse bei Coccidien und Gregarinen lieferte Hinweise dafür, daß dieses besonders dann in großer Menge angesammelt wird, wenn anschließend ein Stadium folgt, bei dem offenbar keine Nahrungsaufnahme möglich ist, aber lebhaftere Entwicklungsvorgänge einsetzen. Man kann somit die Vermutung äußern, daß es als Energiereserve für derartige Prozesse anzusehen ist.

### Literaturverzeichnis.

- BAUER, H. (1933): Mikroskopisch-chemischer Nachweis von Glykogen und einigen anderen Polysacchariden. Zeitschr. mikr. anat. Forsch. Bd. 33.
- BEST, F. (1906): Über Karminfärbung des Glykogens und der Kerne. Zeitschr. f. wiss. Mikr. Bd. 23.
- BRAULT, A. u. LOEPER, M. (1904): Le Glycogène dans le développement de quelques organismes inférieurs. Journ. Phys. Path. Gén. T. 6.

# ZOBODAT - [www.zobodat.at](http://www.zobodat.at)

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: [Archiv für Protistenkunde](#)

Jahr/Year: 1934

Band/Volume: [83\\_1934](#)

Autor(en)/Author(s): Giovannola A.

Artikel/Article: [Die Glykogenreaktionen nach Best und nach Bauer, in ihrer Anwendung auf Protozoen. 270-274](#)