

Nachdruck verboten.  
Übersetzungsrecht vorbehalten.

(Aus dem Hygienischen Institut der Universität Heidelberg.  
Direktor: Geheimrat Prof. Dr. Kn an ff.)

## Die Übertragung von *Plasmodium praecox* auf Kanarienvögel durch *Stegomyia fasciata* und die Entwicklung der Parasiten im Magen und den Speicheldrüsen dieser Stechmücke.

Von

Dr. med. et phil. R. O. Neumann,  
a. o. Prof. d. Hygiene an der Universität.

(Hierzu Tafel IV—VI.)

### Einleitung.

Nachdem durch zahlreiche Menschenversuche der Beweis geliefert worden war, daß infizierte *Stegomyia fasciata* durch den Stich das gelbe Fieber zu übertragen vermögen, so mußte der Schluß auch berechtigt sein, daß diese Stechmücken Entwicklungsformen des Gelbfieberserregers in irgendeiner Form in sich bergen müssen. Alle Nachforschungen, nach dieser Richtung hin haben jedoch noch zu keinem greifbaren Resultat geführt.<sup>1)</sup> Nichtsdestoweniger wird man nach unserer hentigen Erkenntnis in der Übertragung pathogener Parasiten durch Stechmücken aus vielen Analogien den Schluß ziehen können, daß die Stegomyien tatsächlich Parasiten weiter zu entwickeln imstande sind. Bei dieser Sachlage würde es schon einen Schritt vor-

<sup>1)</sup> M. OTTO und R. O. NEUMANN: Studien über das gelbe Fieber in Brasilien. Zeitschr. f. Hyg. und Infektionskrankh. 1905 Bd. 51 p. 357.

wärts bedentet haben, wenn mit Sicherheit der Nachweis gelungen wäre, eine Weiterentwicklung von irgendwelchen anderen und genauer bekannten Parasiten, z. B. der Malaria oder Vogel malaria in der *Stegomyia* festzustellen. Allein auch hierfür fehlte bisher jeder Anhaltspunkt. In der mir zugänglichen Literatur, die über diesen Gegenstand überhaupt nur Spärliches berichtet, habe ich nichts Positives finden können.

Der erste, der *Stegomyien* auf eventuelle Entwicklungsstadien von Parasiten zu prüfen Gelegenheit hatte, war R. Ross,<sup>1)</sup> welcher bei seinen berühmten Übertragungsversuchen von *Proteosoma* durch Stechmücken und seinen Malaria studien auch *Stegomyien* (seine „geringelten“ Stechmücken) zu Versuchszwecken heranzog. Er ließ 1895 in Secunderabad *Stegomyien* an Personen saugen, welche Halbmonde in ihrem Blut zeigten und ebenso „geringelte Mücken einer besonderen braunen Art“ an Patienten, die an Quartana litten, ohne daß nachher eine Weiterentwicklung der Parasiten- oder Cystenbildung am Magen eingetreten wäre. Auch in Bangalore ließ er malariakranke Leute von *Stegomyien* stechen, ohne nachher eine Veränderung in den Mücken gesehen zu haben.

Seine weiteren Studien mit den „großen Mücken“ (später als *Culex fatigans* [WIEDEMANN] bestimmt) und dem *Plasmodium praecox* (*Proteosoma*) brachten dann seine bedeutende Entdeckung von der Weiterentwicklung der Parasiten zu Cysten- und zu Sichelkeimen — aber mit *Stegomyia* blieb auch hier der Erfolg aus. Ein Übersehen etwaiger Entwicklungsstadien seinerseits ist auszuschließen! Ross neigt vielmehr, wie er mir persönlich in Liverpool mitteilte, der Ansicht zu, daß das Nichtvorhandensein von derartigen Stadien bei der in Indien vorkommenden Art, möglicherweise in den örtlichen Verhältnissen oder der Lebensweise der Mücke seine Ursache gehabt haben könnte.

Weiterhin sind meines Wissens *Stegomyien* bis zum Beginn meiner Versuche im Frühjahr 1905 nicht in den Bereich von Übertragungsversuchen mit *Proteosoma* gezogen worden; nur berichtet Ross noch, daß CHRISTOPHERS, DANIELS und STEPHENS acht Arten von *Anopheles* fanden, welche Malaria übertrugen, *Culex* und *Stegomyia* verhielten sich dagegen refraktär. Hier wurde also *Stegomyia* auch für Malariaübertragungsversuche benutzt, nicht für Vogel malaria.

<sup>1)</sup> RONALD ROSS: Untersuchungen über Malaria. 1905. E. Fischer, Jena.

Das was ROSS in Indien mit *Proteosoma* an *Culex fatigans* festgestellt hatte, konnte n. a. KOCH,<sup>1)</sup> RUGE<sup>2)</sup> und GRASSI<sup>3)</sup> in Deutschland und Italien bei *Culex pipiens* und *Culex nemorosus* von neuem wiederholen und damit feststellen, daß auch andere Culexarten zur Weiterentwicklung fähig sind. Über den Zusammenhang von *Proteosoma* mit *Stegomyia* konnte ich in der neusten Literatur nur eine einzige Angabe finden: In den Annales Pasteur teilen die Gebrüder SERGEANT<sup>4)</sup> mit, daß sie in Algier zwei Stegomyien an einem mit *Proteosoma* infizierten Kanarienvogel saugen ließen und dann 8 Tage später bei einer dieser Mücken eine Cyste in noch unreifem Zustande vorfanden. Aus dieser nur 4 Zeilen langen Notiz ist über die näheren Details des Versuchs nichts Weiteres zu entnehmen, sicher geht aber daraus hervor, daß die Reifung der Cysten und das eventuelle Überwandern der Sichelkeime in die Speicheldrüsen und eine nachherige Übertragung auf andere Vögel nicht beobachtet wurde. Mit dem äußerst geringen Versuchsmaterial von nur zwei Stegomyien ließ sich auch nichts Vollkommeneres eruieren. Immerhin läßt die von meinen Versuchen unabhängig in Algier gemachte Beobachtung doch erkennen, daß die Möglichkeit einer Entwicklung von *Proteosoma* in der *Stegomyia fasciata* bestehen konnte. Mehrere Versuche in dieser Richtung scheinen aber von den Gebrüder SERGEANT nicht gemacht worden zu sein; infolgedessen sind wir auch nicht unterrichtet, ob eine vollständige Entwicklung in dem Körper der afrikanischen Stegomyien stattfand. Gleichzeitig will ich auch nicht unerwähnt lassen, daß, wie mir Herr Prof. FÜLLEBORN vom Tropenhygienischen Institut in Hamburg persönlich mitteilte, bei orientierenden Versuchen über die Entwicklungsmöglichkeit von *Proteosoma* in der *Stegomyia*, unabhängig von meinen Versuchen, von ihm und Herrn Stabsarzt Dr. WERNER Ookineten im Magen der *Stegomyia* gesehen wurden. Eine weitere Entwicklung etwa bis zu Cysten oder Sichelkeimen in der Speicheldrüse konnte damals jedoch ebenfalls nicht beobachtet werden.

<sup>1)</sup> R. KOCH: Über die Entwicklung der Malariaparasiten. Zeitschr. f. Hyg. und Infektionskrankh. Bd. 32 p. 1.

<sup>2)</sup> R. RUGE: Untersuchungen über das deutsche Proteosoma. Centralbl. f. Bakt. I Bd. 29 Nr. 5.

<sup>3)</sup> B. GRASSI: Die Malaria-Studien eines Zoologen. Jena (Fischer II. Aufl. 1901.

<sup>4)</sup> Ed. et Et. SERGEANT: Études sur les Hématozoaires d'Oiseaux. Ann. de l'Inst. Pasteur 1907 XXI p. 255.

### Untersuchungsmethodik und Technik.

Die *Stegomyien*, welche zu den Versuchen benutzt wurden, stammten aus der Zeit der Studien über das Gelbfieber, die M. OTTO und ich gemeinsam in Brasilien im Jahre 1904 und später im Hamburger Tropenhygienischen Institut fortgesetzt hatten. Ich habe die Mücken dann seit Februar 1905 im hiesigen Institut weiter fortgezüchtet und bisher\*) über 75 Generationen erhalten können. Eine Reihe späterer Versuche wurde auch mit Afrikanischen *Stegomyien* ausgeführt, die aus Togo stammten.<sup>1)</sup> Ausführliches über die Lebensweise der *Stegomyien* zu berichten, unterlasse ich an dieser Stelle. Interessenten finden vieles davon in unseren früheren Berichten.<sup>2)</sup> Ich teile nur einiges mit über die von mir geübte Technik des Stechen- und Saugenlassens, über die Aufbewahrung der infizierten Mücken und über die Untersuchungsmethodik der Mückeneingeweide, Dinge, die zum Verständnis der Versuche und für eventuelle Nachprüfungen von Wert sein können.

Alle Entwicklungs- und Übertragungsversuche, die bei *Stegomyia fasciata* angestellt und verfolgt wurden, habe ich auch mit *Culex pipiens* in Parallelversuchen wiederholt und zwar unter absolut gleichen äußeren Verhältnissen, gleicher Temperatur, gleicher Feuchtigkeit und gleicher Nahrung.

Der Zweck war folgender: Da man bei der Infektion von *Culex pipiens* alle Entwicklungsphasen des *Proteosoma* kennt und unter normalen Verhältnissen auch stets eine Infektion der *Culexmücken* nebst Cystenbildung zustande bringt und beobachten kann, so hätte sich, da mit beiden Mückenarten unter ganz denselben Bedingungen die Versuche angestellt wurden, ein Mißlingen der Übertragung auf *Stegomyia* leicht auf seine richtige Ursache zurückführen lassen.

Das Ausgangsmaterial für beide Arten von Mücken waren Eier, welche in der Gefangenschaft ausliefen und sich weiter zu Larven, Puppen und Imagines entwickelten. Die Zucht wurde fortgesetzt bis eine größere Menge weiblicher Tiere zu Stechversuchen vorhanden waren. Ich hielt sie in Aquarien, welche mosquitosicher verwahrt, resp. in großen Kästen, die an den Breitseiten mit Glas, an der vorderen oberen und hinteren Seite mit Gaze verschlossen waren.

\*) Februar 1908.

<sup>1)</sup> Ich erhielt dieselben durch die Freundlichkeit von Herrn Physikus Dr. OTTO in Hamburg.

<sup>2)</sup> M. OTTO und R. O. NEUMANN l. c.

Die Fütterung gelang im Sommer mit Kirschen, süßen Birnen, Bananen oder falls dieses Material nicht zur Hand war und im Winter mit Honig oder Zuckerlösung. Benutzt man Zuckerlösung, so ist streng darauf zu achten, daß die Zuckerlösung selbst oder die mit Zuckerlösung getränkte Watte täglich erneuert wird, weil sich sonst sehr leicht Schimmelpilze und Bakterien entwickeln, die den Mücken gefährlich werden können. Außerdem wird sie leicht sauer und ist alsdann für die Tiere ungenießbar.

Blut bekamen die Mücken niemals vor ihrer eigentlichen Bestimmung, proteosomahaltiges Kanarienvogelblut zu saugen. Es wurde dadurch der Bluthunger gereizt und auch die Möglichkeit erhöht, bald nach dem Ansetzen zu stechen. Man kann die Mücken auch mit vegetabilischer Nahrung — auch die Weibchen — bei einiger Aufmerksamkeit wochenlang am Leben halten.

Nebenbei sei nur bemerkt, daß die Aufzucht von *Culex pipiens* in der Gefangenschaft unter Umständen mehr Aufmerksamkeit erfordert als die Entwicklung von *Stegomyia* und zwar in bezug auf die Fütterung der Larven.

Früher gaben wir ihnen Maiskörner im aufgequollenen Zustande, ebenso den *Stegomyia*-Larven, jetzt bin ich zur Fütterung mit Weißbrot übergegangen und habe gute Erfolge gesehen. Aber auch hier muß Sorge getragen werden, daß das Wasser, worin die Larven sich befinden, erneuert wird, sobald es sich trübt, da die übrigbleibenden Brotreste säuern und in dem sauren Medium die Larven zugrunde gehen.

Das Sängenlassen der Mücken an Kanarienvögeln stößt auf manche Schwierigkeiten. Die wichtigste Sorge ist die, daß zu der Zeit, wo ein Kanarienvogel eine reiche Menge männlicher und weiblicher Gameten enthält auch genügend sangfähige Mückenweibchen vorhanden sind. Denn ein Operieren mit nur einigen Exemplaren hat gar keinen Zweck, weil erstens nicht alle Mücken, die zu ihrem Opfer gesetzt werden, saugen, zweitens, weil immer einige Mücken — voransgesetzt, daß nicht alle Vorsichtsmaßregeln getroffen sind — von dem Kanarienvogel weggefangen oder zerdrückt werden und drittens weil man eine Unmenge von Mücken für die Präparation nötig hat. Denn wenn die Entwicklung der Parasiten im Mückenmagen, die Copulation, das Ausschwirren der Mikrogameten, das Wachstum der Ookineten, später die Heranbildung der Cysten und das Verhalten der Sichelkeime in den Speicheldrüsen genau beobachtet werden soll, so muß man in den

ersten 60 Stunden allein alle 10—15 Minuten eine oder mehrere Mücken opfern, später täglich bis zu 14 Tagen mehrere pro Tag. Denn nicht jedes Präparat gelingt und besonders das Isolieren der Speicheldrüsen stellt an das Material große Ansprüche. Zieht man ferner in Betracht daß, wie wir später sehen werden, nur bei verhältnismäßig wenig Stegomyien die Weiterentwicklung der Ookineten zu Cysten und der Übergang in die Speicheldrüsen erfolgt, so ist daraus ersichtlich, daß wiederum eine große Anzahl Mücken geopfert werden müssen, um über die Prozentzahl der mit Cysten infizierten einen Anhaltspunkt gewinnen zu können.

Da es unmöglich ist in einer Periode der Entwicklung vom Saugen der Mücke an bis zum Übergang der Sichelkeime in die Speicheldrüsen, alle Stadien genau zu verfolgen, so mußten mehrere größere Mengen Stegomyien oder *Culex* an verschiedenen infizierten Kanarienvögeln und zu verschiedenen Zeiten saugen. Auf diese Weise habe ich innerhalb von 7 Monaten über 2500 Stegomyien und über 350 *Culex* zu Infektionszwecken verwendet, eine Zahl, welche erlauben dürfte einen richtigen Schluß auf die Häufigkeit des Auftretens von Cysten zu geben.

Anfänglich setzte ich den infizierten Kanarienvogel frei in einen Netzkasten, wo sich eine große Reihe zu infizierender Stegomyien befanden. Da derselbe aber alsbald die um ihn herumschnummenden Mücken wegschnappte, brachte ich ihn in ein kleines Drahtkästchen, worin er sich nur noch rühren und umdrehen konnte. Aber auch hier fanden die Stegomyien bei dem unruhigen Gast nicht Gelegenheit, sich mit ihren Stechwerkzeugen in die Haut einzubohren. Deshalb wickelte ich ihn später in ein dünnes weitmaschiges Drahtnetz so ein, so daß er sich nicht mehr bewegen konnte. Die Mücken suchten zunächst die am leichtesten zugänglichen Stellen ohne Federn auf z. B. die Beine. Da ich jedoch sah, daß die Mücken hier nur spärlich Blut fanden, so schnitt ich allen später verwandten Kanarienvögeln die Federn möglichst kurz, um den Mücken den Stechakt bequemer zu machen. Dadurch gelang es jedesmal eine Reihe von ihnen zum Saugen zu veranlassen. Die Vögel mußten in ihrem kleinen Gefängnis 1—3 Stunden, manche auch über Nacht verweilen, damit auf einmal möglichst viele aus ein und derselben Infektionsperiode des Vogels Blut genießen konnten.

Der Saugakt dauerte bei beiden Mückenarten 1—4 Minuten bis sie sich dick vollgesogen hatten. EYSEL<sup>1)</sup> berechnet die Zeit-

<sup>1)</sup> EYSEL: Die Stechmücken. In MENDEL'S Handb. der Tropenkrankh. II p. 76.

dauer des Saugens auf 70—110 Sekunden bei „Stechmücken“, wobei aber nicht angegeben ist, ob es sich um *Anopheles* oder *Culex* handelte. Offenbar beruhen die Zeitunterschiede darauf, daß die Mücken nicht jedesmal eine genügend weite Capillare auffinden. Bei den Stegomyien geht der Saugakt meist schneller vor sich als wie bei *Culex*.

Steigen die Mücken von ihrem Opfer herunter — ein „Fliegen“ ist es nicht mehr — so bleiben sie gewöhnlich in nächster Nähe des Vogels sitzen oder kriechen ganz träge ein Stück weiter, um dort zunächst mehrere Stunden ruhig zu verdauen. Sie sind so wenig beweglich, daß man sie mit einer Pinzette anzufassen vermag. Jede Mücke, die den Saugakt beendet hatte, wurde auf diese Weise oder im NOCHT'schen Fangglas gefangen, der Zeitpunkt des Saugens genau notiert und sie zur weiteren Untersuchung ihres Magens angehoben.

Alle die Mücken, welche längere Zeit wegen der Cystenbildung beobachtet werden sollten, kamen in verschiedene Netzkästen und wurden wie oben weitergefüttert.

Um die Mücken zum Saugen besser zu bewegen, ist es rationell, wie es auch RUGE schon anprobiert hat, denselben vorher einige Tage nur Wasser zu reichen. Dies gilt für *Anopheles*, *Stegomyia* und *Culex*. Die Stegomyien saugen auch leicht am Vogel, wenn man sie erst eine Zeitlang mit Zuckerlösung füttert, ihnen dann 2 Tage nur Wasser gibt und sie noch 1 Tag hungern läßt.

Die Schwierigkeit *Culex* zum Saugen zu bringen, welche sich bereits für die Überwinterung eingerichtet haben und die nach RUGE erst 8—14 Tage bei 24—30° gehalten werden müssen, kann man umgehen, wenn man Eier anschlänfen läßt und die Larven sofort in wärmere Verhältnisse bringt. Die ausgeschlüpften Imagines verhalten sich dann genau so wie die Imagines der Stegomyien und saugen ebenso leicht, nachdem man sie vorher hat hungern lassen. Die *Stegomyia*-Weibchen saugen das erstmal Blut schon wenige Tage nach dem Ausschlüpfen aus der Puppe. Bei *Culex* dauert es meist viel länger, ehe sie Blut nehmen.

Die Stegomyien sind von den bekannten drei Stechmückenarten, *Anopheles*, *Culex* und *Stegomyia* wohl die gierigsten. Sie fallen gewöhnlich über das zum Saugen bestimmte Tier sofort her, unabhängig ob es abends oder am Tage ist. Die *Culex* dagegen sind am Tage nicht leicht zum Saugen zu veranlassen, weshalb

<sup>1)</sup> RUGE: Einführung in das Studium der Malariaerkrankheiten. Jena (Fischer) II. Aufl. 1906 p. 298.

man die Stechversuche mit diesen Tieren rationeller gegen Abend vornimmt, sobald Dunkelheit eintritt. Es ist auch dann bei diesen Tieren nicht nötig, sie in Draht einzunwickeln, weil sie die Mücken in der Dunkelheit nicht leicht abfangen können.

Die Temperatur spielt insofern eine Rolle, als die Stegomyien am ehesten bei einer Temperatur stechen, die zwischen 25—28° liegt. Sie tun es auch, wenn man sie hungern läßt und einige Zeit bei niedriger Temperatur hält, etwa bei 20—22°, aber ungern. Frisch eingefangene *Culex* stechen bei gewöhnlicher Zimmertemperatur von cr. 20°, falls sie überhaupt saugen wollen, ohne weiteres. Bei höheren Temperaturen etwa bei 25—28° saugen sie ebenfalls, sobald sie an diese Temperatur gewöhnt sind oder wenn man sie bei dieser Temperatur aus Eiern gezüchtet hat.

In meinen Versuchen habe ich deshalb die aus Eiern gezüchteten *Culex* und Stegomyien in einem auf 27° konstant gehaltenen Zimmer aufbewahrt, einzelne Serien jedoch auch, um den Unterschied in der Entwicklung der Cysten bei verschiedenen Temperaturen zu studieren, bei 20° gehalten.

Die Lust zum Saugen scheint zu verschiedenen Zeiten und bei den verschiedenen Mücken, vielleicht auch unter den Mücken der einzelnen Gelege recht verschieden zu sein. Ich habe bei den Stegomyien z. B. die Imagines aus 24 verschiedenen Eigelegen benutzt und folgende Ergebnisse erhalten:

1.	Von 154 weiblichen Stegomyien saugten	30
2.	" 192 " " "	50
3.	" 161 " " "	127
4.	" 40 " " "	6
5.	" 39 " " "	21
6.	" 238 " " "	79
7.	" 60 " " "	32
8.	" 320 " " "	15
9.	" 79 " " "	8
10.	" 42 " " "	13
11.	" 16 " " "	6
12.	" 20 " " "	5
13.	" 62 " " "	19
14.	" 160 " " "	17
15.	" 257 " " "	197
16.	" 12 " " "	10
17.	" 23 " " "	21
18.	" 125 " " "	19

19.	Von 250 weiblichen Stegomyien saugten	34
20.	" 66 " " "	37
21.	" 39 " " "	8
22.	" 18 " " "	7
23.	" 50 " " "	4
24.	" 27 " " "	24

Hieraus geht hervor, daß bald der größere Teil, bald nur die geringere Anzahl Mücken zum Saugen zum Veranlassen sind, denn es schwankt die Zahl derjenigen, die Blut gesogen haben von 4,7—91 Proz. Im ganzen haben von 2573 Stegomyiaweibchen nur 789 Blut gesogen, das sind 30,7 Proz.

Bei den *Culex*-Mücken ist die Prozentzahl derer, die Kanarienvogelblut aufnahmen günstiger.

Es sogen von 365 Mücken 234 = 64 Proz.

Will man einen Schluß aus diesen Beobachtungen ziehen, so liegt die Annahme nahe, daß die Stegomyien nicht gern, vielleicht nur gezwungen, an Vögel herangehen, um Blut zu saugen, sich vielmehr lieber des Säugetierblutes bedienen. Dagegen scheint für die *Culex* das Vogelblut eine natürlichere Nahrung zu sein. Macht man das Saugexperiment umgekehrt und läßt Stegomyien und *Culex* an Ratten beispielsweise saugen, so beobachtet man, daß die Stegomyien sofort, die *Culex* dagegen nur ganz allmählich, vielleicht nur mit Widerwillen herangehen. Und macht man das Experiment am Menschen, wie ich es zur Prüfung dieser Fragen an mir angestellt habe, in einem Raum, in welchem gleichviel bluthungerige Stegomyien und *Culex* freigelassen sind, so wird man ganz unweigerlich von den Stegomyien zuerst gestochen, während die *Culex* sich erst später heranwagen.

Nachdem die Tiere Blut gesogen haben und nach einigen Tagen die Verdauung zu Ende ist, so sind sie entgegen anderer Meinung wiederum in der Lage von neuem Blut aufzunehmen, auch wenn sie mit Proteosomablut infiziert waren und eine weitere Entwicklung der Parasiten vor sich geht. Ich habe ein wiederholtes Saugen bei Stegomyien beobachtet, in zwei Fällen bis zu 3 mal, in einem Falle sogar 5 mal in Zwischenräumen von 7—10 Tagen, wenn man nur dafür sorgt, daß die Mücken ihre Eier in Wasser ablegen können und für eine neue Copulation mit Männchen Sorge trägt.

Die Beobachtung RUCK'S,<sup>1)</sup> daß die *Culex*-Mücken nach Aufnahme von stark proteosomhaltigem Blut leicht an der Malaria-

<sup>1)</sup> RUCK: Malaria usw. I. c. p. 298.

infektion sterben, konnte ich nur ganz ausnahmsweise machen. Ich habe *Culex* sowie Stegomyien nur an Kanarienvögeln saugen lassen, welche sehr stark infiziert waren, in einigen Fällen sogar kurz nach dem Saugakt der Mücken an ihrer Infektion verendeten, und trotzdem fast gar keine Verluste gehabt.

Es starben von den 789 Stegomyien, welche Blut gesogen hatten nur 26, von den 234 *Culex* nur 8. Wäre das stark infektiöse Blut daran schuld gewesen, so hätten wahrscheinlich eine bedeutend größere Menge Mücken absterben müssen.

Um ein Wort über die Proteosomavögel zu erwähnen, so möchte ich hervorheben, daß ich zur Weiterimpfung, wie es auch vielfach anderwärts geübt wird, einen Teil oder das ganze Blut eines infizierten Kanarienvogels in den Brustmuskeln injizierte. Ob mit physiologischer Kochsalzlösung oder 3 proz. Natriumcitratlösung verdünnt oder unverdünnt ist gleichgültig. Der Impferfolg bleibt kaum aus. Nur einmal sah ich unter den 32 verwendeten Kanarienvögeln, daß die Infektion nicht anging, woraus hervorzugehen scheint, daß hier und da doch ein Kanarienvogel gegen Proteosomainfektion refraktär sein kann.

Bei der Infektion in die Bauchhöhle bleibt zuweilen der Erfolg aus oder aber die Parasitenanreicherung im Blut wird stark verzögert. Bei der Brustmuskelfektion dagegen hat man es ziemlich genau in der Hand, eine Maximalinfektion in einer gewissen Zeitperiode zu erzielen. Spritzte ich 0,5 ccm + 0,5 NaCl-Lösung in den Brustmuskel ein, so waren die Vögel zwischen 7–9 Tagen auf der Höhe der Infektion angelangt, d. h. die meisten Blutkörperchen enthielten Parasiten und außerdem war das Blut voll von Gametocyten. In dieser Zeitperiode wurden auch die Mücken angesetzt. Von den 32 Kanarienvögeln, welche künstlich infiziert waren, ist nur ein einziger immun geworden, alle anderen starben am 10.–14. Tage.

Blutproben für die Untersuchung über die Menge der vorhandenen Parasiten entnahm ich dem Flügeleude. Ist etwa ein infizierter Kanarienvogel wieder Erwarten vor der Entnahme des Blutes gestorben, so gelingt es auch noch bis zu 24 Stunden nach dem Tode des Vogels mit seinem Blut ein anderes Tier zu infizieren.

Über die Technik bei der Sektion und Untersuchung der Mücken kann man bei RUGE<sup>1)</sup> und bei EYSELL<sup>2)</sup> nachlesen.

<sup>1)</sup> RUGE: Malaria I. c. p. 301 ff.

<sup>2)</sup> EYSELL: in MENSE I. c. p. 74 ff.

Ich füge nur einige Bemerkungen hinzu über Punkte, die ich als praktisch gefunden habe.

Will man eine einzelne Mücke aus dem Netzkasten heransholen, so benützt man das NOCHT'SCHE Fangglas. Braucht man eine größere Anzahl auf einmal — so z. B. wenn man in einem Käfig, wo zahlreiche Mücken enthalten sind, die Männchen und Weibchen voneinander trennen will —, so ist es am besten, sämtliche zu chloroformieren, indem man einen mit etwas Chloroform getränkten Wattebausch in den Kasten hineinlegt oder Chloroform oben auf die Gaze des Kastens auftröpfelt. In kurzer Zeit fallen die Mücken zu Boden und es ist dann leicht sie in der Narkose herauszusuchen. Man sieht den gegebenen Zeitpunkt für das Aufhören der Narkose darin, daß die Mücken, alle sechs Beine einzeln von sich zu strecken beginnen. Sterben sie in der Narkose, so ziehen sie stets alle sechs Beine zusammen und strecken sie wie in einem Bündel zusammenliegend, aus.

Die Präparation des Magens gelingt leicht. Handelt es sich um Herstellung von Präparaten für den hängenden Tropfen oder um ungefärbte Ausstrichpräparate, so entnehme ich vom Mageninhalt, den man durch Ansdücken leicht erhält eine Kleinigkeit, verdünne dieselbe mit einer Spur physiologischer Kochsalzlösung und bringe das Tröpfchen zur weiteren Untersuchung unter Vaseline- oder Canadabalsamverschluß unter ein Deckgläschen. KOCH untersuchte die lebenden Parasiten in einer Mischung von Taubenblutserum und Kochsalzlösung. Ich habe Kanarienvogelblutserum und Kochsalzlösung benützt, aber keinen wesentlichen Vorteil von der Anschwemmung des parasitenhaltigen Blutes in reiner Kochsalzlösung gesehen.

Die Beobachtung der Weiterentwicklung der Parasiten braucht nicht bei erhöhter Temperatur zu erfolgen, man sieht alle Phasen bereits bei Zimmertemperatur eintreten.

Die für die Färbung bestimmten Präparate habe ich entweder mit Alkohol absolnt. oder mit Osmiumsäure fixiert. Besonders wenn man letzteres Fixationsmittel noch bei dem nicht eingetrockneten Präparat benutzt, erhält man in der Zeit, wenn die Microgameten ausschwärmen sehr naturwahre Bilder und man kann die Microgameten in ihren Bewegungen sehr schön festhalten. Leider bekommen die nachher mit Giemsa-Lösung gefärbten Osmiumpräparate einen blauen Ton, der manche Feinheit des Präparates verschleiern kann. Dagegen die mit Alkohol fixierten Präparate geben die bekannte herrliche Färbung im Drei- oder Vierfarben-

gemisch, besonders wenn man mit verdünnter Lösung (10 Tropfen auf 15 Wasser) und  $\frac{3}{4}$ —1 Stunde lang färbt. Ganz dasselbe gilt von den Präparaten von Sichelkeimen aus den Speicheldrüsen.

Zur Untersuchung der Cysten am herauspräparierten Magen verwende ich ebenfalls Kochsalzlösung, nicht wie SCHAUDINN es tat, Abdominalflüssigkeit von Stechmücken. Enthält der Magen noch unverdautes Blut, was vielfach, wenn sich die jungen Cysten schon entwickeln der Fall ist, so mache ich einen kleinen Schnitt in den Magen und spüle ihn dann in einer größeren Menge Kochsalzlösung aus. RUGE entfernt das Blut aus dem Magen durch Anffallenlassen eines Deckgläschens und öfteres neues Hinzufügen von Kochsalzlösung. Ich habe gefunden, daß die erstere Methode etwas schonender ist, da schon beim Liegenlassen der mit Blut gefüllten Magen in Kochsalzlösung dasselbe allmählich heraussickert, wohl auch hindurchdiffundiert.

Derartige Magencystenpräparate habe ich auf verschiedene Art einzubetten und als Dauerpräparate aufzuheben versucht:

1. In Chlornatriumlösung 0,8 Proz. (Verschluß mit Glycerin-  
gelatine und Canadabalsam darüber);
2. in Formalinwasser 2 Proz. (Verschluß ebenso);
3. in Chlornatriumformalinwasser aa. part. (Verschluß ebenso);
4. nach Fixation mit Osmiumsäuredämpfen direkt in Glycerin-  
gelatine (Verschluß mit Canadabalsam);
5. nach Fixation mit Osmiumsäuredämpfen, Alkoholreihe, Xylol,  
Canadabalsam (Verschluß nicht nötig);
6. nach Fixation mit Osmiumsäuredämpfen direkt in Formalin-  
wasser (Verschluß Glycerin-  
gelatine und Canadabalsam darüber);
7. nach Sublimatfixierung, Auswaschen mit Jodalkohol, Alkohol-  
reihe, Xylol, Canadabalsam (Verschluß nicht nötig);
8. nach Sublimatfixierung usw. Alkoholreihe in Glycerin (Ver-  
schluß Glycerin-  
gelatine und Canadabalsam darüber);
9. nach Osminsäurefixierung, Glycerinwasser, in Glycerin  
(Verschluß wie bei 8).

Ganz dieselben Methoden kamen auch bei Speicheldrüsen-  
präparaten in Betracht.

Alle benutzten Arten der Konservierung und Einbettung lassen sich anwenden, aber alle kranken daran, daß nach gewisser Zeit, bei einer Methode schneller als bei der anderen, die nach direkter Entnahme im lebensfrischen Präparat so deutlich sichtbaren Konturen der Magenepithelzellen, der Cystenmembran und Sichelkeime, ebenso der Speicheldrüsenzellen und der darin enthaltenen Sichel-

keime, undentlich und verwaschen werden. Das Lichtbrechungsvermögen geht verloren und das ganze Präparat wird bis auf einige dunklere Linien ganz durchsichtig. Sogar die charakteristischen Tracheen auf dem Magen können unsichtbar werden. Außerdem finden sich später sehr häufig braunschwarze Punkte und Niederschläge über das ganze Präparat verstreut.

Die besten Ergebnisse für ein dauerndes gutes Erhalten sind noch mit der Osmiumsänrefixierung zu erhalten und zwar, wenn man nicht nur 5—6 Sekunden, sondern bis 40 Sekunden fixiert. Die Präparate erhalten dadurch zwar einen gelben bis braungelben Ton, der jedoch das Bild an sich nicht alteriert. Ob Canadabalsam nach vorheriger Alkoholreihe oder Formalinwasser oder Gelatine als Einbettungsmittel dabei benutzt wird, ist dann ziemlich gleichgültig, Canadabalsameinbettung ist jedoch vorzuziehen. Auch mit heißer Sublimatlösung behandelte Präparate, die später in Formalinwasser oder Canadabalsam gelegt werden, halten sich zum Teil gut. Glycerin macht vielfach zu durchsichtig.

Bei der Präparierung von Stegomyiamägen ist zu beachten, daß dieselben sich nach der Isolierung aus dem Körper in der Präparierflüssigkeit gewöhnlich sofort stark kontrahieren,<sup>1)</sup> so daß in der Beobachtung der Magenstruktur und der Cysten Schwierigkeiten entstehen. Man kann die starke Zusammenziehung verhindern oder auch — allerdings schwieriger — wieder ausgleichen, wenn man den Magen direkt nach der Isolierung in nur ganz wenig Kochsalzlösung bringt, so daß er noch am Objektträger haften bleibt und ihn dann mit einer Nadel zu strecken oder in die Länge zu ziehen versucht. In diesem ausgestreckten Zustand ist er dann sofort in Formalin, heißer Sublimatlösung oder Osmiumsäure zu fixieren.

Will man Cystenpräparate und Speicheldrüsenpräparate im gefärbten Zustande aufbewahren, was entschieden für Dauerpräparate zu empfehlen ist, so härtet man bequem mit 5 Proz. Formalinwasser, alsdann Alkohol 60 Proz. und färbt mit Hämatoxylin. Nach Differenzierung bis zur satten Blauviolett färbung in Leitungswasser schließt man die Alkoholreihe und Canadabalsam an. Alle Konturen und Umrisse bleiben dauernd gut zu erkennen. Auch nach Fixierung mit heißer Sublimatlösung und Auswaschen mit Jodalkohol läßt sich gut mit Hämatoxylin färben.

Die Speicheldrüsen wurden stets mit bloßem Auge und

<sup>1)</sup> Der Magen der *Culex* kontrahiert sich kaum und ist leichter zu untersuchen.

zwei Skalpelnadeln unter Zuhilfenahme einer schwachen Vergrößerung zur Kontrolle, präpariert. Ich bevorzuge dabei einen Querschnitt durch den Thorax direkt hinter dem Hals mit Zurücklassung eines kleinen Teiles Thorax und nachheriges Heranspräparieren der Drüsen, was nach einiger Übung meist gut gelingt.

Für Schnittpräparate durch den Magen oder die ganze Mücke oder die Speicheldrüsen hat mir die Methode der Celloidin und Paraffineinbettung mit vorheriger Entwässerung durch Aceton, wie sie EYSELL<sup>1)</sup> angibt, gute Resultate geliefert. Die Schnitte werden später mit Hämatoxylin gefärbt.

### Verhalten des infizierten Vogelblutes im Magen des *Stegomyia*.

Sind die *Stegomyien* hungrig und werden beim Saugakt nicht gestört, dann nehmen sie Blut bis zum maximalen Füllungsvermögen des Magens auf. Sie begnügen sich aber auch mit weniger, falls sie beim Saugen gestört werden. Haben sie den Magen schon über die Hälfte des Füllungsvermögens mit Blut angefüllt, so gehen sie in der Regel nicht noch ein zweites Mal an den Vogel, sondern verdauen erst die vorherige Mahlzeit. RUGE<sup>2)</sup> gibt an, daß *Anopheles*-Weibchen in ihrem Magen 2,2 cmm Blut aufzunehmen vermögen. Ich habe bei *Stegomyien* diesen Punkt genauer verfolgt und dabei ermitteln können, daß ein *Stegomyia*-Weibchen in seinem Magen bei maximaler Füllung 1,6 mg Blut aufnimmt. Ich ließ zu diesem Zweck 100 Weibchen, welche frisch ausgekrochen waren, 10 Tage lang von Zuckerlösung sich nähren, gab ihnen dann 4 Tage nur Wasser und ließ sie noch 1 Tag hungern. In diesem Zustande wurden sie chloroformiert und in einem vorher getrockneten Wägegläschen gewogen. Das Gewicht betrug 0,1283 g, d. i. pro Mücke 1,3 mg. Darauf wurden sie an verschiedene Kanarienvögel auf einmal angesetzt, bis sie sich ungestört vollgesogen hatten, wiederum chloroformiert und wieder gewogen. Jetzt betrug das Gewicht 0,2910 g, d. i. pro Mücke 2,9 mg. Es hat also eine Mücke im Durchschnitt 1,6 mg Blut aufgenommen. Auf diese Art glaube ich ein einwandfreieres Resultat erzielt zu haben, als wenn ich verschiedene mit Blut gefüllte Mägen hätte herauspräparieren und einzeln wiegen wollen. Interessant ist, daß diese kleinen Tiere weit mehr als ihr eigenes Gewicht an Blut aufnehmen können. Nebenbei gebe ich aus rein biologischem Interesse

<sup>1)</sup> EYSELL: Die Stechmücken. In MENSE I. c. p. 75.

<sup>2)</sup> RUGE, Malaria I. c. p. 298.

auch das Gewicht von 100 männlichen Stegomyien an, die in gleicher Weise und unter denselben Verhältnissen gewogen wurden, wie die Weibchen. Es betrug 0,0866 g d. i. pro Mücke 0,86 mg. Da die Männchen bekanntlich nicht Blut saugen, so ist darüber natürlich nichts auszusagen, wie viel sie aufnehmen würden. Aus den Gewichts-differenzen der Männchen und Weibchen geht hervor, daß die Männchen weit schwächer sind als die Weibchen, was auch dem makroskopischen Aussehen entspricht.

Nach Aufnahme des Blutes sind die Mücken dick aufgeblasen und ihr Magen scheint gegen das Licht gehalten leuchtend rot. Nach kurzer Zeit sieht man, daß die hintere Partie des Magens dunkler wird und eine vordere hellere Zone sich abscheidet d. h. es trennen sich die Blutkörperchen vom Serum. Ich stimme hier mit EYSELL<sup>1)</sup> überein, wenn er annimmt, daß die Scheidung der Blutkörperchen vom Serum nur auf der Schwerkraft beruhe und auf der mit dem Hinterleib nach unten gerichteten Sitzweise.

Als bald beginnt nun die Verdauung des Blutes, d. h. die Lösung des Hämoglobins und der Zerfall der roten Blutkörperchen, was sich makroskopisch durch Kleinerwerden des Magens und die dunklere schwarzrote bis schwarzbraune Farbe kundgibt. Im Magen bleibt dann, wie man sich leicht beim Herauspräparieren desselben überzeugen kann, eine schwarzbraune zähe Masse zurück, die aus hämatogenen Pigment besteht.

Durch LÜHE<sup>2)</sup> darauf aufmerksam gemacht, daß der Kot der Mücke ein gutes Hilfsmittel bilde, um den Stand der Verdauung des Blutes im Magen zu beurteilen, habe ich die Abscheidung desselben bei den Stegomyien ebenfalls verfolgt und kann LÜHE's Beobachtungen bestätigen. Auch hier treten allmählich zu den abgesetzten schwarzkörnigen Pigment enthaltenden Kot, allmählich immer mehr und mehr, entsprechend der weiter schreitenden Verdauung, Exkrete der MALPIGHI'schen Gefäße bei und lassen dem Kot immer heller erscheinen, bis er fast nur noch weißlich aussieht, besonders wenn die Mücken später wieder Zuckerlösung aufnehmen. Die Verdauung des Blutes hängt ganz von der Temperatur ab. Ich beobachtete bei den Stegomyien, daß bei einer Temperatur von 27° die Verdauung — makroskopisch beobachtet — innerhalb 2 bis 3 Tagen vollendet ist. Nach 48 Stunden ist meist die Füllung des Magens wieder die normale, aber bei der Präparation finden sich

<sup>1)</sup> EYSELL: Stechmücken I. c. p. 54.

<sup>2)</sup> LÜHE: In MENSE III I. c. p. 165.

stets Reste von Blut noch am Ende des dritten Tages. Bewahrt man die Mücken bei 20° auf, so verzögert sich die Verdauung wesentlich und es dauert 4—6 Tage, ehe alles Blut aufgezehrt ist. Ja, ich habe in einigen wenigen Fällen sogar nach 9—11 Tagen noch Spuren von Blut im Magen vorgefunden, nachdem schon Cysten mit Sichelkeimen vorhanden waren. *Culex* verhält sich ganz ähnlich. LÜHE fand ebenfalls bei *Culex* die Verdauung des Blutes bei 26° in 2 Tagen vollendet, bei 8° erst nach 6—8 Tagen und RUCK beobachtete bei *Anopheles*, daß bei 30° in 36 Stunden alles Blut verdaut war, bei 10° erst nach 4 Tagen.

Untersucht man nun das angenommene Blut während des Verdauungsprozesses, so findet man bereits im Stegomyiamagen nach wenigen Minuten, selbst nach 1 Minute nach dem Saugakt, den Beginn des Blutkörperchenzerfalls. Derselbe hält mit der Eindickung und der makroskopischen Veränderung des Blutes ungefähr gleichen Schritt, so daß z. B. bei langsamer Verdauung in kühlerer Temperatur nach 4 Tagen, wenn noch Spuren von Blut im Magen vorhanden sind, auch stets noch einzelne unzersetzte rote Blutkörperchen angetroffen werden. Die Hauptmasse ist zerfallen und man sieht nur noch Kerne. Auch diese lösen sich allmählich auf bis nur noch ein kaum färbbares Gerinnsel übrig bleibt. Das Protoplasma der Vogelblutkörperchen scheint außerordentlich wenig widerstandsfähig zu sein, gegen die Enzyme des Magensaftes, während sich die Kerne bedeutend resistenter verhalten. Letzteres gilt ebenso von den Parasiten. Diese überdauern mindestens stets den Zerfall des Protoplasmas der Blutkörperchen und nachdem sie dann frei geworden sind, überleben manche den Zerfall der Kerne. Es mag dahingestellt sein, ob die Parasiten, wenn sie mit den infizierten Blutkörperchen in den Magen gelangen vielleicht durch ihre eigene Giftwirkung mit dazu beitragen, daß die Blutkörperchen zerfallen oder aber ob das Blutkörperchen — was das wahrscheinlichere ist — eher der Wirkung des Magensaftes anheim fällt, jedenfalls sieht man wenige Minuten nach dem Saugakt im Magenblut eine große Anzahl freier Parasiten. Vornehmlich weibliche und männliche Gameten, auch Teilungsstadien, auch zuweilen mehr oder weniger Jugendformen.

Am längsten halten sich jedenfalls die weiblichen Gameten. Genane Zeitangaben über die Resistenz der einzelnen Elemente lassen sich jedoch nicht geben, da der Zerfall von verschiedenen Faktoren abhängt, z. B. auch davon, ob bei noch nicht vollständigem verdauten Blut schon wieder Zuckerlösung genommen wird, dann

auch von der Lage der Blutkörperchen, ob sie am Rande des Magens oder in der Mitte der Blutmasse liegen. So fand ich z. B., um nur zwei Daten anzugeben, in einem Falle nach 48 Stunden, wo gewöhnlich schon das meiste verdaut ist, die Kerne der Blutkörperchen kaum zerfallen und Teilungsformen noch vollständig intakt und ein anderes Mal bereits nach 20 Stunden fand ich nur Detritus und kaum mehr kenntliche Parasiten. Nach 56 Stunden Verdauung bei 27° sind gewöhnlich keine geformten Blutelemente mehr vorhanden, nur noch Parasitenstadien: eventuell Ookineten. Der übrige Mageninhalt besteht aus Magensaft, Detritus, Bakterien und hier und da Hefen.

Im Vergleich zu dem verdauten Blut im Stegomyiamagen ist, wie ich vielfach beobachten konnte, der Zerfall des Blutes im Magen von *Culex* ein bedeutend schnellerer. Nach 8 Stunden bereits sind intakte Parasiten nur noch sehr spärlich zu sehen, Blutkörperchen fast alle aufgelöst.

Ich übergehe hier die Beschreibung der Proteosomaparasiten in den Vogelblutkörperchen, da ich sie als allbekannt voraussetzen kann und verweise auf die der Arbeit beigegebenen Tafeln, wo auf Tab. IV Fig. 1—21 einige charakteristische Formen wiedergegeben sind.<sup>1)</sup>

Fig. 1—3 repräsentieren die jüngsten Stadien der Infektion z. T. in neu entstandenen noch polychromatophil gefärbten Blutkörperchen. Fig. 6 zeigt die bekannte Verschiebung des Blutkörperchenkernes beim Heranwachsen der Parasiten. Nicht selten beobachtet man kernlose Blutkörperchen, welche infiziert sind, wie z. B. in Fig. 5, 7 und 21. Eine Eigentümlichkeit bei der Proteosomainfektion geben die Fig. 4, 8 und 9 wieder. Es ist das merkwürdige Festhalten der Parasiten am Kern, selbst wenn das Protoplasma des Blutkörperchens längst zugrunde gegangen ist. Neben einer unregelmäßigen Teilungsform in Fig. 7 und 8 sieht man in Fig. 10 eine „Gänseblümchenform“ die einem Quartanaparasiten entsprechen könnte. Auffällig sind die vielen kleinen Formen, die in ihrer normalen Größe kleiner als Gameten, aber größer als Merozoiten erscheinen, wie sie in Fig. 13, 14 und 15 dargestellt sind. Sie sehen aus wie Parasiten, die auf einem Zwergstandpunkt

<sup>1)</sup> Sämtliche Bilder auf Taf. IV u. V sind von Präparaten gezeichnet, die aus dem Mageninhalt von *Stegomyia fasciata* stammen und die Entwicklung der *Proteosoma*-Parasiten bis zur Bildung der Ookineten veranschaulichen. Färbung: GEMSA-Lösung. Vergr. 1000:1.

stehen geblieben sind, in ihrer Kleinheit aber auch bereits Teilung des Chromatins aufweisen können (Fig. 14 oben). Auch etwas größere Formen lassen sich nicht selten auffinden, wie Fig. 16, 17 und 18, wo es bis zu einer Vierteilung des Chromatins gekommen ist. Ich habe aber bei diesen Formen nur selten mit Sicherheit eine vollendete Teilung gesehen. Diese Parasiten sind es auch, welche bei der Verdauung des Blutes mit am raschesten zerfallen.

Eine Frage, die bei der Beobachtung solcher kleiner Parasiten zu beantworten bleibt ist die: Wie entstehen sie und wie kommen sie in die Blutflüssigkeit? Es kann zwei Wege geben: Entweder es entwickeln sich Merozoiten extraglobulär oder aber die Blutkörperchen zerfallen sehr zeitig und die jungen Parasiten werden frei und runden sich ab. Für erstere Annahme fehlen die Anhaltspunkte. Wir kennen kein „echtes Plasmodium“, bei dem die Schizogonie außerhalb der roten Blutkörperchen verlief. Dagegen dürfte die zweite Annahme die richtigere sein, denn wir sehen, daß das Protoplasma der roten Blutkörperchen im Magen der Mücke außerordentlich schnell zerfallen kann, so daß die jungen Parasiten frei werden. Daß sie kaum größer werden, wie der ursprüngliche Zustand beim Zerfall der Blutkörperchen war, läßt sich leicht daraus erklären, daß ihnen das Hämoglobin zur Ernährung fehlt, und weil sie sich infolgedessen nicht weiter entwickeln können, so finden wir auch keine vollendeten Teilungsformen bei ihnen. Auch der leichte Zerfall dieser unfertigen Stadien ist somit leicht zu verstehen.

#### **Entwicklung der Microgameten aus den Microgametocyten und die Copulation der männlichen und weiblichen Gameten.**

Hatte die *Stegomyia* an dem Kanarienvogel auf der Höhe seiner Infektion Blut gesogen, so finden sich im Magen der Mücke zahlreiche freie Microgametocyten und Macrogameten (Macrogametocyten LÜHE's) vor, die sich leicht im ungefärbten und gefärbten Präparat auffinden lassen. Beide Formen sind variabler an Größe und Farbenintensität wie die Gameten der menschlichen Malaria. Besonders schwanken die Größenverhältnisse, wie z. B. Fig. 28 und 29; ebenso Fig. 23 und 25 auf Tab. IV und z. B. Fig. 46 und 47 auf Tab. V beweisen. Auch aus den übrigen Bildern Fig. 22—29 ist die Variabilität in Form, Färbung und Granulierung zu entnehmen:

Die Beweglichkeit der Gameten, besonders der weiblichen, fand ich verhältnismäßig lebhaft, wobei jedoch eine Formverände-

rung nicht zu beobachten war. Sehr augenfällig ist die starke Pigmentierung der erwachsenen Gameten. Ich teile die Meinung anderer Autoren, wie SCHAUDINN, ZIEMANN und LÜHE, welche darin den Ausdruck für eine länger dauernde Wachstumsperiode sehen und schließen dies für die Proteosomaparasiten auch daraus, daß man innerhalb der Zeit, wo sich im Vogelblut bereits viele Parasiten in vollendeter Teilung befinden, zunächst nur jüngere Gameten in den Blutkörperchen antrifft. Bei Gameten dagegen gewöhnlich erst, wenn mehrere Generationen mit der Teilung zu Ende sind. Die Beurteilung dieser Tatsache ist allerdings bei *Proteosoma*, weil im Blut alle Entwicklungsstadien nebeneinander vorhanden sind, nicht ganz leicht, doch vermag man bei täglicher genauer Untersuchung des Kanarienvogelblutes vom Beginn der Infektion an genügend Anhaltspunkte dafür zu gewinnen.

Während nun der Macrogamet sich in seinen Formen nicht oder nur durch seine Kernreduktion verändert, entstehen alsbald wesentliche Umwandlungen im Inneren des Microgametocyten. Das Protoplasma verschwindet und an Stelle desselben sieht man im gefärbten Präparat eine reichliche Menge Chromatin auftreten, neben starker Pigmentgranulierung (Fig. 37 Tab. IV). Am Ende dieser Umwandlung haben sich eine Anzahl deutlich unterscheidbare Kerne gebildet, bis zu acht, manchmal auch weniger, worauf die Anflösung des Microgametocyten und die Ausschwärmung des Microgameten vor sich geht. Ich habe Gelegenheit gehabt in zahlreichen Präparaten aus dem Magen der Mücken zu sehen, wie die Microgameten direkt aus dem Chromatin entstehen und sich herausentwickeln, und habe einzelne Typen in den Fig. 38—42 auf Tab. IV wiedergegeben. Es löst sich im gegebenen Augenblick die Membran des Parasiten und ein vorgebildeter Microgamet, der bereits an der Peripherie des Microgametocyten lag, trennt sich ab (Fig. 38 u. 39). Unter scheinbarer Auflockerung des ganzen Parasiten und des Chromatins lösen sich allmählich mehr Microgameten von dem Zentrum ab (Fig. 40), der Parasit wird durchsichtiger und schließlich schießen die spermatozoenähnlichen Gebilde unter drehender Bewegung des Parasiten davon. Es macht den Eindruck, als ob die Parasiten gleichsam aufgerollt wären und abgewickelt würden. Besonders deutlich zeigt dies Fig. 42. Das Pigment wird bei der Auflösung der Parasiten mit herausgeschleudert und ist in solchen Präparaten, wo Microgametenbildung bereits stattgefunden hatte, vielfach als zitternde starkreflektierende Körnchen zu beobachten. Das „Geißeln“ d. h. das Schlagen und Hin- und Herpendeln der

Microgameten, was man im ungefärbten Präparat so schön beobachten kann ist offenbar der Ausdruck dafür, daß die Microgameten sich aus der Verbindung loszureißen versuchen. Man beobachtet zwei, drei und mehrere „Geißeln“ (Fig. 30—33) im ungefärbten Präparat. Die Form der alten Microgametocyten ist fast immer rund, einmal (Fig. 33) sah ich den Parasiten länglich, aber vielleicht ist dieses eine Form gewesen, die schon vor der völligen Auflösung stand. Ihre Bewegung war gleich Null.

Um die „geißelnden“ Stadien so natürlich wie möglich auch im gefärbten Präparat zu bekommen, sind alle diese Präparate mit Osmiumsäuredämpfen fixiert worden. Die „Abwicklung“ der Microgameten geht selbstverständlich nach allen Seiten hin vor sich; sobald die frischen Präparate aber fixiert werden, sieht man die Microgameten auf einer Fläche ausgebreitet.

Ich habe diese Art der Microgametenentwicklung noch nicht beschrieben gefunden, ob sie beobachtet ist, weiß ich nicht. Jedenfalls ist mir in der mir zugänglichen Malarialiteratur und Proteosomaliteratur nichts derartiges aufgestoßen. Diese bei *Proteosoma* im Magen der Stechmücke gefundene Entstehung der Microgameten direkt aus dem Chromatin stellt ein ganz analoges Verhalten dar, wie es SACHAROFF<sup>1)</sup> bei der „Krähenmalaria“ (den Photogrammen entsprechend wohl *Halteridium*) beschrieben hat; daß nämlich „die Geißeln nichts anderes sind als die aus den Zellen austretenden Chromatinfäden“. Das Kernchromatin besitzt nach SACHAROFF bald ovale oder rundliche Form, bald Kerne aus Chromatinfäden bestehend, bald hat der Kern Ausläufer, bald besteht er aus unregelmäßigen Körpern, „die durch einige Fäden“ vereinigt sind. Es teilt sich der Kern durch Caryokinese und die an beiden Polen entstandenen Chromosomen treten später aus dem Parasiten heraus. SACHAROFF sah auch, wie dieselben das Blutkörperchen, in dem der Parasit saß, durchbohrte. Das habe ich aber nicht beobachten können.

Die freien Microgameten pendeln mit schlagenden Bewegungen zunächst in der Nähe des Ursprunges eilig hin und her, bis sie aus dem Gesichtsfeld verschwinden. Sie erscheinen ungefärbt nur als glatte Fäden, im gefärbten Zustande dagegen sieht man an ihnen einen dünneren und einen dickeren kolbig angeschwollenen Teil, welcher an seinem stärkeren Ende oft noch eine birnförmige bis

<sup>1)</sup> SACHAROFF: Über die selbständige Bewegung der Chromosomen bei Malaria-Parasiten. Centralbl. f. Bakteriologie. Bd. 18 p. 376.

kugelige Anschwellung zeigt (Fig. 43, Tab. IV). Die Formen sind aber auch variabel. Wegen ihrer eigentümlichen Bildung fallen sie besonders auf und zeigen damit auch einen anderen Bau, wie etwa die Microgameten der menschlichen Malaria (vgl. die Abbildungen der gefärbten Microgametenpräparate bei ZIEMANN in Mense, Handb. d. Tropenk. III). Mitunter konnte ich verzweigte oder geteilte Microgameten beobachten (Fig. 44 Tab. IV). Auch hierüber habe ich nichts Analoges in der Literatur finden können, falls man nicht die unregelmäßig verzweigten Körper von SACHAROFF, aus denen das Chromatin bestand und aus dem die „Geißeln“ hervorgingen, in einem gewissen Zusammenhang bringen will. Es müßte dann freilich angenommen werden, daß das Chromatin auch nach seiner Abschnürung als Microgamet sich teilen könnte.

Zieht man die Länge der geißelnden Fäden aus Microgametocyten in Vergleich mit den gefärbten „Geißeln“ (Microgameten), so besteht eine erhebliche Differenz. Die ungefärbten Fäden sind viel länger als die gefärbten. Die Erklärung dafür sucht SACHAROFF, der ähnliches auch bei seiner Krähenmalaria gefunden hat, darin, daß die austretenden Microgameten mit einer mit Romanowsky-Farbe nicht färbbaren „achromatischen Fibrille“ verbunden sind, die den eigentlichen Microgameten quasi verlängert. Beim Färben ist dann erst die eigentliche Größe desselben sichtbar.

Die Microgameten treten nicht alle zu gleicher Zeit und nicht alle in einem bestimmten Zeitintervall ans; es kommen im Gegenteil recht große Verschiedenheiten vor. Die Parasiten zum Austritt zu bewegen, gelingt bekanntlich bei *Proteosoma* schon, wenn man infiziertes Kanarienvogelblut auf den Objektträger bringt. Schneller und mit Beteiligung einer größeren Anzahl Microgametocyten geht das Ansschlüpfen aber im Magen der Mücke vor sich. So fand ROSS, daß in vitro bei *Plasmodium immaculatum* 5 Proz. der Halbmonde „Geißeln“ aussandten, während im Magen von *Anopheles* 60 Proz. Microgameten bildeten. Ähnliche Verhältnisse findet man bei *Proteosoma* und im *Stegomyia*-Magen.

Falls im Gesichtsfeld 30—40 Microgametocyten liegen, beobachtet man etwa 1—3, welche Microgameten aussenden. Die übrigen, welche nicht zur „Geißelbildung“ geeignet sind, gehen sehr bald zugrunde.

Das Hervortreten der Microgameten spielt sich meist in der Zeit von  $\frac{1}{2}$ —1 Stunde nach dem Saugakt der Mücke ab. Ich habe aber auch vielfach bei Mücken, die nach weniger als 10 Minuten nach dem Saugakt sezirt werden und nach sofortigem Untersuchen

im hängenden Tropfen bereits Geißelbewegungen gesehen. Andererseits war ich überrascht noch in einem Falle 16 Stunden nach dem Saugen, bei Untersuchung des Mückenblutes frisch austretende und um sich schlagende Microgameten zu beobachten.

Die Bewegungen können ziemlich lange anhalten; ich konnte sie im hängenden Tropfen bis zu 4 Stunden verfolgen, meistens geißelten die Parasiten  $\frac{1}{2}$ — $\frac{3}{4}$  Stunden und zwar fast immer in rhythmischer Bewegung, so, daß 10—26 Sekunden lang zuckende Bewegungen vor sich gehen und darauf eine 5—12 Sekunden dauernde Ruhepause eintritt. Manche Microgameten schlagen ohne Ruhepause bis zu 6 Minuten, um dann fast ebensolange ihr Pendeln zu sistieren. Es kommen aber auch andere Rhythmen vor. Die Ruhepausen werden allmählich immer länger, die Arbeitszeiträume immer kürzer, bis die Fäden ihre Bewegungen ganz einstellen. Diese rhythmischen Bewegungen sieht man besonders deutlich, wenn die Fäden irgendwo festsitzen oder eingeklemmt sind. Handelt es sich um eben ans dem Microgametocyten hervortretende Geißeln, so tritt diese Erscheinung nicht so auffällig zutage, jedenfalls nicht bis zu der Zeit, wo sie sich ganz abgeschnürt haben, auch „geißeln“, nicht alle heransgetretenen Microgameten auf einmal, sondern abwechselnd.

Angelockt von den Macrogameten, deren rollende Bewegung um diese Zeit (meist  $\frac{1}{2}$ — $1\frac{1}{2}$  Stunde nach dem Saugen der Mücke) manchmal eine recht lebhafte ist, schlängeln sie eifrig um diese herum, bis sie an sie herangekommen sind (Fig. 49 Tab. V). Man sieht dann gelegentlich ziemlich schnell einen Microgameten in den Macrogameten verschwinden (Fig. 50. 51 Tab. V und 45. 46. 47), wobei meist die den Microgameten aufnehmende Stelle vorgewölbt erscheint (Fig. 45 Tab. V).

Es widerspricht wohl zwar der allgemeinen Auffassung und SCHAUDINN hat auch erwähnt, daß nach der erfolgten Copulation kein weiterer Microgamet mehr eindringe, doch möchte ich nach meinen Beobachtungen fast glauben, daß dies unter Umständen möglich ist. Ich habe einige Male (Fig. 49 gibt darüber Aufschluß) mit deutlicher Sicherheit das Verschwinden von zwei Microgameten in den Macrogameten beobachten können. Ein Versehen war nahezu ausgeschlossen, da im Präparat der Macrogamet ganz isoliert lag und die Schicht des Präparates war auch so dünn, daß die Microgameten in allen ihren Bewegungen außerordentlich gut verfolgt werden konnten. Die Eiwanderung des einen und des zweiten spielte sich in einem Zeitraum von 6 Minuten ab. Die Bewegungen des vorher stark zitternden und teilweise rollenden Macrogameten

hörten dann auf. Zwei andere Microgameten schienen später an dem Macrogameten fest zu kleben, verfielen bald in die oben besprochene rhythmische Bewegung, bis sie nach ca. 15 Minuten regungslos werden. Bestätigt schien mir die im lebenden Präparat gemachte Beobachtung durch ein Präparat, welches mit Osmium fixiert war (Fig. 49). Dort sah man ebenfalls zwei Microgameten in den Macrogameten verschwinden, während ein dritter in pendelnder Bewegung in nächster Nähe des Macrogameten fixiert wurde. Fig. 47 zeigt einen Macrogameten, an dem zwei früher pendelnde Microgameten zur Ruhe gekommen sind, während von einem, welcher in den weiblichen Gameten verschwand, nur noch ein Rest zu sehen ist.

Finden die Microgameten keinen Eingang in den Macrogameten und können sie so ihr Ziel und ihre Bestimmung nicht erreichen, so sind sie nach kurzer Zeit dem Zerfall preisgegeben. Nachdem die Bewegungen z. T. aufgehört haben, sieht man, wie die anfangs glatten Fäden körnelig werden, ihre rhythmischen Bewegungen hören später ganz auf und der alsdann sehr bald aufgelöste Faden verschwindet aus dem Gesichtsfeld. Vielfach scheint als Zeichen der Degeneration eine Art Agglomeration der zwecklosen Geißeln herbeigeführt zu werden, so daß man nicht selten viele Fäden verschlungen zusammen findet (vgl. Fig. 34. 35. 36 Tab. IV). Kurze, an feinste Streptokokken erinnernde körnelige Fäden sind um diesen Zeitpunkt fast in jedem Gesichtsfeld vorhanden. Farbe scheinen sie nicht mehr anzunehmen.

Die ganze Copulation verläuft innerhalb einer Zeit von ca. 1—2 Stunden. Man sieht auch hier Verschiedenheiten auftreten, da man das Eindringen von Microgameten in den weiblichen Gameten, ähnlich wie das Ausschwärmen der Microgameten, bereits wenige Minuten nachdem die Mücke Blut gesogen hat bis mehrere Stunden später beobachten kann. KOCH erwähnt bei *Halteridium*, daß die Copulation bereits in 10—20 Minuten vollendet sein kann. RUGE fand im *Anopheles*-Magen den Befruchtungsgang in 20 Minuten bis 2 Stunden vollzogen.

Es ist schon viel diskutiert worden über das Reiz auslösende Moment, durch welches die Microgameten frei werden und die Befruchtung zustande kommt. Während DANILEWSKY und SCHAUDINN und auch CLAUS<sup>1)</sup> der Meinung sind, daß besonders die

<sup>1)</sup> LÖBE: MENSE I. c. p. 235 bringt eine zusammenfassende Übersicht über diese Frage, der ich die Daten entnehme.

Abkühlung der Parasiten, sobald sie aus dem Vogelblutkörper herauskommen, dabei von der größten Bedeutung sind, neigen ROSS, DOFLIN und LÜHE der Meinung zu, daß vielmehr die Veränderung der Dichtigkeit des Blutes den wesentlichen Einfluß ausübe. Für beide Anschauungen sind zahlenmäßige Belege vorhanden, die im einzelnen bei LÜHE niedergelegt sind. So beobachtete CLAUS, der sich auf Grund seiner Experimente mit *Halteridium* für die Temperaturerniedrigung (wenigstens soweit es die Microgameten und Ookinetenbildung angeht) aussprach, daß bei 35° die Microgametenbildung ausblieb. Senkte er die Temperatur auf 19,5°, so trat sie nach 40–60 Sekunden ein. Bei 18,5° traten die Geißeln nach 1–3 Minuten, bei 17° nach 1½–2 aber nur vereinzelt und bei 7° gar nicht mehr ans.

Andererseits wiederholte er die von ROSS mit *Perniciosia* ausgeführten Versuche über die Wirkung des künstlichen Blutes und die Wirkung von Luftabschluß oder Luftzutritt auf den Verlauf des Befruchtungsaktes mit *Halteridium* und kam zu übereinstimmenden Resultaten mit ROSS, so daß die von LÜHE früher schon ausgesprochene Vermutung von dem Einfluß der Dichtigkeitsveränderung des Blutes eine besondere Stütze fand.

Das Wesentlichste bei den ROSS'schen Malariaversuchen ist die Beobachtung, daß ein Zusatz von Wasser, je nach der Menge das Heraustreten der Microgameten fördert und daß ebenfalls der Zutritt von Luft den Verlauf beschleunigt.

Ich habe nun in dieser Richtung mit proteosomahaltigem Vogelblut ganz ähnliche Versuche wie ROSS und CLAUS angestellt und bin auch zu ganz ähnlichen Resultaten gekommen. Im ganzen verliefen aber die Phasen der Entwicklung langsam. Da Ookinetenbildung bei *Proteosoma* auf dem Objektträger nicht stattfindet — ich habe wenigstens gleich wie auch KOCH und RUGE nie etwas davon gesehen —, so konnte nur die Microgametenbildung beobachtet werden.

Ich wählte Temperaturen von 37°, 27°, 22° und 8°, benützte unverdünntes Blut, Blut mit physiologischer Kochsalzlösung verdünnt und mit gewöhnlichem Wasser verdünnt. Die Menge des Wassers betrug einmal das Fünffache der verwandten Blutmenge, das andere Mal nur etwa ½ der verwandten Blutmenge.

Folgende kleine Tabelle gibt über die Resultate Aufschluß:

## Das Austreten von Microgameten wurde beobachtet nach Verlauf von

Bei einer Temperatur von	Mit unverdünntem Blut	Verdünnt mit dem 5. Teil NaCl-Lösung	Verdünnt mit der 5fachen Menge NaCl-Lösung	Verdünnt mit dem 5. Teil gew. Wasser	Verdünnt mit der 5fachen Menge gew. Wasser
37°	Blieb ans	Blieb ans	Blieb aus	Nur einmal eine einzige Geißel beobachtet	Blieb ans
27°	Vereinzelte Geißeln nach 15 Min.	Mehrere Geißeln nach 10 Min.	Ganz vereinzelte Geißeln nach 24—25 Min.	Reichliche Geißeln nach 2—3 Min.	Blieb aus
22°	Wenige Geißeln nach 12—13 Min.	Viele Geißeln nach 10 Min.	Vereinzelte Geißeln nach 20 Min.	Vereinzelte Geißeln nach wenigen Sekunden, zahlreich nach 1—2 Min.	Vereinzelte Geißeln in 12—13 Min.
8°	Blieb ans	Blieb ans	Blieb aus	Blieb die ersten 5 Min. ans, später ganz vereinzelt Geißeln	Blieb ans

Hieraus ist zu entnehmen, daß gewöhnliches Wasser in sehr kleinen Mengen (etwa  $\frac{1}{5}$  der Menge des Blutes) dem parasitenhaltigen Blut zugesetzt den größten Reiz ansüßt. Nimmt man sehr viel Wasser (das 10 fache des vorherzugesetzten), so tritt die Reaktion nur langsam und spärlich auf, oder sie bleibt ganz aus. Physiologische Kochsalzlösung in kleinen Mengen hat keinen wesentlichen Einfluß auf den Austritt der Microgameten. Der Erfolg ist nur et was besser als wie bei unverdünntem Blut.<sup>1)</sup> Größere Mengen verzögern die Entwicklung. Die Temperaturunterschiede von 27°—22° sind nicht von sehr einschneidender Bedeutung, wenn auch bei 22° die Entwicklung etwas lebhafter vor sich geht. Temperaturen von 37° und 8° scheinen im allgemeinen ungeeignet zu sein; nur bei einer Verdünnung mit wenig gewöhnlichem Wasser zeigten sich ganz spärliche Geißeln.

Ganz dieselben Versuche, bei Luftabschluß ausgeführt, brachten mich zu der Überzeugung, daß der freie Zutritt von Luft

<sup>1)</sup> Ross l. c. sagt p. 24 in seiner Arbeit, daß sich die Geißeln, so lange das Blut unverdünnt ist, überhaupt nicht ablösen. Hier scheint also zwischen Perniciosa und der von mir verwendeten Proteosoma ein Unterschied zu bestehen.

zu dem Blut wohl einen Einfluß in günstigem Sinne hat, aber doch nicht von ausschlaggebender Bedeutung sein kann. Die Unterschiede waren so klein, daß ich es für überflüssig halte sie hier im einzelnen wiederzugeben. Ich neige nach den gemachten Beobachtungen vielmehr der Ansicht zu, daß osmotische Einflüsse bei dem Austreten der Geißeln bei weitem die wichtigste Rolle spielen, was sich sehr deutlich im Parallelversuch mit Kochsalzlösung und gewöhnlichem Wasser ausspricht. Da das gewöhnliche Wasser ja auch hämolytisch wirkte, so kann man eine anregende Wirkung auf den Parasiten auch ohne weiteres verstehen.

Wie ist aber der Austritt der Geißeln im Magen der Mücke zu erklären?

Zunächst erinnere ich daran, daß im *Stegomyia*-Magen die Microgameten bei der gewöhnlich von mir geübten Methodik<sup>1)</sup> im allgemeinen viel später austraten als bei der Untersuchung des direkten Blutes vom infizierten Vogel. Im Mittel fand ich den Austritt  $\frac{1}{2}$ —1 Stunde nach dem Saugakt, freilich auch in manchen Fällen nach weniger als 10 Minuten, in einem Falle aber erst 16 Stunden nach dem Sagen.

Die Temperaturunterschiede können auch für diese Verzögerung nicht allein verantwortlich gemacht werden, da ich in speziell darauf gerichteten Versuchen, bei denen Mücken vor und nach dem Saugen sowohl bei 22° als auch bei 27° gehalten und sezirt wurden, nngefähr dieselben Resultate erhielt. Es bleibt also als wirksames stimulierendes Agens nur die Magenflüssigkeit übrig. Daß sie ein anreizendes Liquidum ist, sehen wir daran, daß das Protoplasma der Blutzörperchen und später auch die Kerne, endlich auch die Parasiten angegriffen und verdaut werden. Warum sollen nicht auch die freien Microgametocyten eine Stimulation zur Aussendung ihrer Geißeln erfahren? Die Magenflüssigkeit, vielleicht auch vom Magen gebildetes Enzym, wirkt aber schonender als gewöhnliches Wasser und deshalb dauert der Entwicklungsprozeß der Microgameten im Magen der Mücke länger als wenn das Blut im Objektträgerpräparat direkt untersucht wird.

Nach all diesen Beobachtungen möchte ich mit Nachdruck

<sup>1)</sup> Die Mücken, welche gesogen hatten, waren bei 27° gehalten. Zur Untersuchung werden sie in demselben Raum chloroformiert, in einem Nebenraum von 20—22° (Zimmertemperatur) gebracht, sezirt und der Mageninhalt untersucht, nachdem derselbe mit einer Spur physiologischer Kochsalzlösung verdünnt war. Letztere hatte, wie wir eben aus der Tabelle ersahen, keinen wesentlichen Einfluß auf die Beschleunigung des Geißelaustrittes.

mich — wie es LÜNE ja schon ausgesprochen hat — der Ansicht zuneigen, daß die Aussendung von Microgameten in erster Linie abhängig ist und ausgelöst wird von „der Veränderung der Dichtigkeit des Blutes“. Die Temperaturunterschiede dürften erst in zweiter Linie in Betracht kommen. Vielleicht wirken im Magen der Mücke stimulierende Enzyme mit.

### Die Bildung der Ookineten.

Nachdem die Microgameten sich mit den Macrogameten vereinigt haben, entsteht zunächst ein rundes oder gelegentlich auch längliches Gebilde (Fig. 53–56), in welchen man neben einem dichten blauen Protoplasma auch eine Menge Chromatin vorfindet. Dies stammt z. T. von dem aufgenommenen Microgamet. Bei gut gelungener Färbung kann man deutlich einen größeren und kleineren Kern unterscheiden, welche SCHAUDINN als die Kerne des Macro- und Microgameten auffaßt, die noch nicht verschmolzen sind. Im ungefärbten Präparat zeigen sich die neu entstandenen Ookineten als rundliche Gebilde mit stark reflektierendem Pigment, welches zuweilen außerordentlich großkörnig ist. Die frühere Bewegung der Macrogameten hat aufgehört.

Zur Illustration der Frage, die bereits oben berührt wurde, ob mehr als ein Microgamet in den Macrogameten eindringen kann, verweise ich auf Tab. V Fig. 57. Es ist das Bild wohl nicht anders zu deuten, als daß eine Überfruchtung von zwei Microgameten stattgefunden hat. Die Form selbst dürfte ein allerjüngstes Ookinetenstadium darstellen, indem die Kerne noch nicht aneinander gerückt sind. Die Entstehung der Ookineten schließt sich auch an die Copulation an und man müßte dieselben, falls man ihre jüngsten Stadien immer ohne weiteres von den noch vorhandenen Macrogameten unterscheiden könnte, sie in jedem Präparat eruieren und die Zeit ihres Anfangs festlegen können. Es ist dies aber leider nicht der Fall. Wir vermögen die Ookineten als solche meist erst genau zu erkennen, wenn sie ihre charakteristische Form angenommen haben oder wenigstens im Begriff sind, sie anzunehmen. Dies wird erleichtert dadurch, daß nnterdessen die übrigen Elemente, Blutkörperchen und Parasitenzellen absterben, zu Detritus zerfallen und sich nicht mehr färben lassen resp. eine homogene Masse bilden, aus der sich die Ookineten färberisch oder durch ihre Konturen abheben. Es ist eine biologische Merkwürdigkeit, daß die neugeborenen Ookineten, die aus nichts anderem bestehen, als aus

Protoplasma und Chromatin wie die weiblichen und männlichen Gameten, der auflösenden Kraft des Magensaftes trotzen können und weiter gedeihen, während alle anderen Parasitenbasen, die übrig blieben, in derselben Zeit zugrunde gehen.

Die Zahl der entstehenden Ookineten kann aus der Zahl der vorhandenen Macrogameten und Microgametocyten nicht mit Bestimmtheit vorangesagt werden. Es copulieren jedenfalls nur ein beschränkter Teil der letzteren und zwar verhältnismäßig wenig. Bei den einzelnen Parasiten und verschiedenen Mücken ist es durchaus verschieden. So findet man sie bei *Proteosoma* im *Culex*-Magen stets ziemlich reichlich vor, im *Stegomyia*-Magen stets sehr spärlich. Dabei ist es ziemlich gleichgültig, ob man die Mücken bei 22° oder bei 27° hält. Ich vermute, daß hier doch auch die Verdauungssäfte bei den einzelnen Arten Mücken eine wichtige Rolle spielen, die das Aufleben der eben entstandenen Ookineten und die Weiterentwicklung möglicherweise verhindern.

Der Zeit nach beobachtete ich bereits die ersten Ookineten in ihren Anfangsstadien, wie sie in Fig. 58—62 Tab. V wiedergegeben sind, gewöhnlich nach 10—16 Stunden nach dem Saugakt, in ganz seltenen Fällen bereits nach 6 Stunden. Das Wachstum schreitet rasch vorwärts, so daß man bis zu 20 Stunden Formen wie in Fig. 63—67 vorfinden kann, d. h. der früher runde, später etwas verzogene Parasit fängt an nach einer Seite hin das Protoplasma vorzustrecken und sich allmählich zur Retortenform (Fig. 68 bis 71) auszuwachsen.

Letztere Formen werden gelegentlich schon nach 16 Stunden hier und da angetroffen, die Hauptmengen dagegen zeigen sich nach cr. 26 Stunden. In dieser Zeit habe ich wenigstens im *Stegomyia*-Magen die Entwicklung und weitere Entstehung der Ookineten am lebhaftesten gefunden.

Die sogenannten Retortenformen zeigen gelegentlich sehr eigentümliche Gestalt und erscheinen besonders groß (Fig. 71), nehmen aber bei der späteren Streckung sehr bald wieder eine gedrängte Form an. Die nächstfolgende Phase ist die der gekrümmten „Würmchen“ (Fig. 77—80). Hier sind die Ookineten auf dem Höhepunkt ihres Wachstums angelangt, welches im allgemeinen in die Zeit von 50—64 Stunden fällt. Die gekrümmten Formen werden später immer rarer, es machen ihnen die gestreckten Platz (Fig. 72 bis 75), die ich bis zu 72 Stunden lebend angetroffen habe. Sie sind es, welche weiter in die Magenwandung vordringen und die Cystenbildungen veranlassen. Untersucht man sorgfältig noch

länger die Mägen der Stegomyien, so trifft man nach 75 Stunden nur noch Ookineten an, die ihren Zweck nicht erfüllen konnten und dem nunmehrigen Zerfall preisgegeben sind. Sie werden zum Teil rundlicher, das Protoplasma löst sich auf, es treten bizarre Verschiebungen in der Form auf, es läßt sich nur noch schlecht färben, auch das Chromatin, welches noch wenige Stunden vorher hellrot anfleuchtete, verliert seinen Glanz, bis endlich nur noch ein Schatten des Parasiten zurückbleibt (vgl. Fig. 81—92 Tab. V). Der vollständige Zerfall geht mit der Anflösung der letzten Spur Blut im Magen der Mücke parallel. Da die weiter zu untersuchenden Mücken wieder anstatt Blut Zuckerlösung bekamen, so fand man später im Mageninhalt nichts mehr, was auf die Anwesenheit so großer Mengen parasitenhaltigen Blutes schließen ließ.

Dies ist der allgemeine regelmäßige Entwicklungsgang der Ookineten im Stegomyiamagen. Hiervon beobachtet man auch allerlei Abweichungen. Ich habe z. B., während sich schon nach 36 Stunden fast reife gebogene Formen und viele Retortenformen vorfanden, noch Copulation beobachtet. Die daraus entstehenden jungen Formen kommen naturgemäß sehr spät zur endgültigen Entwicklung, so daß diese Formen erst gegen die 70. Stunde den Höhepunkt ihrer Ausbildung erreicht haben. Ausererorts sah ich gelegentlich schon nach 26—30 Stunden die ersten Zerfallsformen, welche wahrscheinlich Überreste einiger weniger schon nach 16 bis 20 Stunden vollendeten reifen Ookineten gewesen sind. Bis zur 60.—64. Stunde sieht man noch alle Formen von der Retorte bis zur gestreckten Form, dann gehen sie nach ihrer Streckung ihrer weiteren Bestimmung entgegen oder zerfallen.

Aus diesen Beobachtungen geht hervor, daß im *Stegomyia*-Magen die Ookinetenbildung im allgemeinen langsam vor sich geht. Vor allen Dingen ist, wie ich anderen Autoren entnehme, die Entwicklung der Ookineten von *Halteridium* eine bedeutend schnellere. So beschreibt KOCH, daß die Halteridiumookineten auf dem Objektträger sich in 30—45 Minuten! gebildet hätten; auch CLAUS berichtet in den obengenannten Versuchen, daß die Ookinetenbildung kaum über 1 Stunde hinaus gedauert hätte.

Weitere Untersuchungen über die Ookinetenbildung bei *Proteosoma* im Magen von *Culex pipiens* resp. *Culex nemorosus* zeigten ähnlich wie bei meinen Versuchen mit Stegomyien eine Verlangsamung gegenüber dem *Halteridium*, aber doch eine gewisse Beschleunigung gegenüber den Ookineten im Stegomyiamagen. KOCH fand bei *Proteosoma* im Magen von *Culex nemorosus* Ookineten nach

12—15 Stunden, welche aber nach 48 Stunden sämtlich verschwunden waren. Auch RUGE fand bei *Culex pipiens* nach 48 Stunden keine Ookineten mehr vor und GRASSI sah die Ookineten der menschlichen Malaria bei *Anopheles* von der 12. Stunde an, die bis zur 40. Stunde zu verfolgen waren. Für *Proteosoma* im *Culex* Magen kann ich die Beobachtungen von KOCH und RUGE bestätigen.

Die hier beschriebenen Resultate sind gewonnen bei der Aufbewahrung der Stegomyien bei 27°. Bleiben dieselben nach dem Stechakt einer kühleren Temperatur ausgesetzt, so verlangsamt sich die Ookinetenbildung. So fand ich bei diesen hierauf gerichteten Untersuchungen, daß bei Aufbewahrung bei 22°, Ookineten noch am 4. Tage angetroffen wurden, während sich der Anfang der Ookinetenbildung vor 25—30 Stunden nie konstatieren ließ; in der Regel fiel die Reife der an sich viel spärlicheren Ookineten in die Zeit von 70—75 Stunden.

Diese Beobachtung scheint mir insofern interessant, als sie zum erstenmal deutlich zeigt, daß die Temperaturerniedrigung eine Hemmung für die Entwicklung der Spätformen der Parasiten bildet. Für die Aussendung der Microgameten aus den männlichen Gameten schien sie ja, wenigstens in den Intervallen von 27°—22° nicht von wesentlicher Bedeutung zu sein. Bei der Ookinetenbildung kommen diese Differenzen schon in Betracht und bei der Cystenbildung fallen sie noch mehr ins Auge.

Eine Frage, die noch bei den Ookineten zur Diskussion steht ist die, ob es sexuell verschiedene Formen gibt. SCHAUDINN hatte bei seinen *Halteridium*-Studien in der *Athene noctua*, indifferente, männliche und weibliche sehen wollen. Betrachtet man die Reihe der Abbildungen von Fig. 59—80 auf Tab. V, so wird man sich des Eindruckes nicht erwehren können, daß hier Formen vorliegen, die — besonders die gekrümmten Ookineten (Fig. 72—80) — mit männlichen und weiblichen Halbmonden eine gewisse Ähnlichkeit haben. Das soll nur soviel sagen, daß in dem einen Falle dunkelgefärbte Parasiten vorhanden sind, mit dichtem violettblauen Protoplasma, einem kompakten Chromatiukern in der Mitte und das grobkörnige Pigment um den Kern herumgelagert z. B. Fig. 74. 75. 78. 79. 70 und außerdem finden sich Typen mit hellem durchsichtigeren Protoplasma, verstreutem Chromatin und weit verteiltem Pigment, ganz ähnlich den männlichen Geschlechtsformen der Gameten z. B. Fig. 68. 73. 76. 80.

Wenn auch meine Beobachtungen dafür zu sprechen scheinen, daß in der Tat männliche und weibliche Ookinten vorliegen, so hält

es doch schwer den Zweck dieser Formen ohne weiteres einsehen zu können, wenn man nicht etwa annehmen will, daß die Cysten Produkte der Vereinigung der sexuell getrennten Formen sind.

### Die Cystenentwicklung im Magen der Stegomyia.

Über die Art der Einwanderung der Ookineten in die Magenwandung und die Anfänge der Cystenbildung besteht noch nicht völlige Klarheit. Bekannt ist, daß der Ookinet durch das Magenepithel wandert, um sich in der Tunica elasticomuscularis festzusetzen. SCHAUDINN nimmt an, daß der Parasit wirklich in die Epithelzelle eintritt, dort längere Zeit verweilt und dann erst zur Tunica elasticomuscularis vordringt. LÜHE dagegen glaubt an einen Durchtritt der Parasiten zwischen den Epithelzellen. GRASSI ist noch anderer Meinung. Aus der Meinungsverschiedenheit dieser so kompetenten Forscher geht schon hervor, daß die Betrachtung dieser Entwicklungsphase mit ziemlichen Schwierigkeiten verknüpft ist und noch manche Unsicherheit besteht.

Soweit meine Beobachtungen bei *Proteosoma* im Magen der *Stegomyia* und bei *Culex* einen Schluß zulassen, so möchte ich mich eher der Meinung LÜHE's anschließen. Ich habe bei den vielen Präparaten bei der Untersuchung auf Ookineten stets sorgfältig die Magenwandungen abgesucht, ohne auch nur einmal in der Epithelzelle einen Ookineten zu sehen. Der Durchtritt zwischen den Epithelzellen kann aber auch nicht lange währen, denn die wenigen Male, wo ich Ookineten so gelagert fand, daß man ein derartiges Durchdringen annehmen mußte, scheinen für die Schnelligkeit des Durchganges zu sprechen.

Sollte es sich bewahrheiten, daß es männliche und weibliche Ookineten gebe, — von indifferenten Formen SCHAUDINN's habe ich im Stegomyiamagen nichts Sicheres sehen können, — so würde man noch zu entscheiden haben, ob beide Formen oder welche von beiden befähigt wäre, sich direkt in die Cyste umwandeln zu können. Besonders diese Metamorphose scheint mir nach allem, was ich darüber fand, noch nicht genügend klar gestellt zu sein. Es wäre ja schließlich — falls die Anschauung von männlichen und weiblichen Ookineten anfrecht zu erhalten ist — immerhin möglich, daß ein Verschmelzungsprodukt der sexuellen Formen in der Tunica elasticomuscularis erst den Ursprung der jungen Cyste abgibt.

Die ersten Anfänge der Cystenbildung sind schon ziemlich zeitig zu beobachten. RUGE sah bei *Culex Proteosoma*-Cysten bei

24—30° nach 2—3 Tagen. Ross fand sie nach 30 Stunden und GRASSI bei *Anopheles* die Malariacysten bereits vor 40 Stunden. Ich kann für *Proteosoma*-Cysten bei *Culex* die Angaben RUGE's und ROSS' bestätigen, dagegen liegen die Verhältnisse bei *Stegomyia* anders. Vor dem 3. Tage ist es mir nie gelungen Cysten zu finden, auch am 4. Tage nur sehr vereinzelt und erst am 5.—6. Tage sah man sie deutlich hervortreten. Dieser Unterschied in der Entwicklungsdauer der Cysten bei *Stegomyia* und *Culex* ist ein Analogon zur Verzögerung der Ookinetenbildung bei *Stegomyia* gegenüber *Culex* und *Anopheles*.

Läßt man die Mücken bei 27° saugen und bringt sie dann in eine Temperatur von 22° oder läßt man sie bei 22° saugen und behält diese Temperatur bei, so wird ganz ähnlich wie bei der Ookinetenbildung die Heranreifung der Cysten stark verzögert. Die Verlangsamung läßt sich z. B. durch die Angabe kennzeichnen, daß Cysten, die bei 27° am 4. Tage sichtbar sind, bei 22° erst am 8. Tage gesehen werden können. Auch RUGE<sup>1)</sup> berichtet für *Proteosoma* bei *Culex* ganz Ähnliches. Am 7. Tage waren die Cysten bei 20° erst so groß wie ein rotes Blutkörperchen. Es scheint auch die relative Feuchtigkeit der Luft, in der die *Stegomyien* gehalten werden, einen gewissen Einfluß auf die Heranreifung der Cysten zu haben. Für gewöhnlich betrug bei meinen Versuchen die relative Feuchtigkeit im Raum mit 27° C etwa 75—80°, da reichlich Wasser verdunstet wurde. Ließ ich in speziellen Versuchen die Feuchtigkeit der Luft auf etwa 40% heruntergehen, so dauerte die Entwicklung noch länger. So konnte ich in den Fällen, in denen bei 27° und 75% relativer Feuchtigkeit die Cysten am 3. Tage zu sehen waren, dieselben bei 40% Feuchtigkeit erst am 5. Tage beobachten.

Wenn es berechtigt ist aus diesen Beobachtungen einen Schluß auf die praktischen Verhältnisse zu ziehen, so würde man anzunehmen haben, daß in Regenzeiten in den Tropen bei der hohen relativen Feuchtigkeit eine größere Gefahr der Übertragung von Parasiten durch Stechmücken vorhanden ist, weil die Parasiten schneller und damit reichlicher entwickelt werden, als in den trocknen Zeitperioden.

Die jüngsten Stadien sind wegen der optischen Indifferenz gegenüber den gleich hellen Epithelzellen nicht ganz leicht zu sehen. Als charakteristisches Merkmal dient das Pigment, welches stark

<sup>1)</sup> RUGE: Untersuchungen über das deutsche *Proteosoma*. Centralbl. f. Bakteriologie. I Bd. 29 Nr. 5.

lichtbrechend zunächst als winzige Körnchen zu beobachten ist. Sonst sind diese Zellen kaum von der Umgebung zu unterscheiden (vgl. Tab. VI Fig. 94 kleinste Cyste). In dieser ersten Größe habe ich die Cysten zu  $24 \mu$  messen können. GRASSI beobachtete bei den jüngsten Malariaparasiten einen Durchmesser von  $30 \mu$ .

Die Entwicklung geht nun verhältnismäßig rasch vorwärts. Die Cyste hebt sich nach mehreren Stunden von der Umgebung mehr hervor, das Pigment wird zahlreicher (Fig. 94 auf Tab. V obere Cyste), scheint jedoch später zu verschwinden; jedenfalls ist es an der Oberfläche der Cysten nicht mehr leicht sichtbar. Erst bei vollständig reifen Cysten (Fig. 97 Tab. VI) war es in den Restkörpern wieder zu finden. Ungefähr 24 Stunden nach dem ersten Sichtbarwerden der Cysten beobachtete ich verschiedene Male Cysten mit einem bläulich grünlichem Reflex und auffälliger grobkörniger Pigmentbildung (vgl. Fig. 95 Tab. VI), deren Bedeutung mir jedoch nicht ganz klar geworden ist. Da die Cysten nicht selten in Gemeinschaft mit etwas mehr erwachseneren Cysten zusammen vorkamen, deren Inhalt stets körnig dunkel war, so ist die Möglichkeit nicht ausgeschlossen, daß es sich hier vielleicht um Cysten handelte, in denen später „Blackspores“ gefunden wurden.

Die weitere Entwicklung im einzelnen zu besprechen kann ich mir versagen, da sie von der Entwicklung der Malariacysten kaum abweichend vor sich geht; letztere ist bei LÜHE sehr eingehend und anschaulich in MENSE<sup>1)</sup> S. 240 ff. beschrieben.

Im halberwachsenen Zustande zeigten die Cysten eine gröbere Granulation (Fig. 96 Tab. VI kleine Cyste). Später sind die Sichelkeime deutlich darin wahrzunehmen (Fig. 96 Tab. VI große Cyste). Die Tunica elasticomuscularis umschließt die Cyste, welche eng mit den Epithelzellen des Magens verbunden ist (Fig. 97 Tab. VI). Bei stark durchsichtig gemachten Cysten erkennt man leicht die Restkörper, von denen die neugebildeten Sichelkeime ausgehen (Fig. 97 Tab. VI).<sup>2)</sup>

Die Zahl der Sichelkeime in den Cysten von *Stegomyia* schwankte ziemlich beträchtlich. Schätzungsweise sind es meist mehrere Hundert, sie können sich aber auch bis in die Tausende vermehren. Ihre Entwicklung fällt ungefähr in die Zeit des 6.—8. Tages nach Sichtbarwerden der Cysten oder in die Zeit des 8.—10. Tages nach dem

<sup>1)</sup> MENSE: Handbuch der Tropenkrankheiten Bd. III.

<sup>2)</sup> Die in der Cyste liegenden Sichelkeime sind in der reproduzierten Figur leider etwas schematisiert worden.

Saugen am Vogel. Die Sichelkeime bei *Culex* werden bereits am 6.—7. Tage in den Cysten sichtbar und reifen durchgehends viel eher ans, wie die *Stegomyia*-Cysten. KOCH und RUGE fanden ebenfalls bei *Culex* bereits am 6.—7., resp. am 7. Tage den Anfang der Sichelkeime.

Die Zeitangabe für die Entwicklung der Cysten und der Sichelkeime dient freilich nur als großer Durchschnittswert. Es gibt wohl keine andere Entwicklungsphase der Parasiten in der *Stegomyia*, die so variierte, wie gerade die Cysten, und zwar in bezug auf Anlage wie Reifung und Menge. Die verschiedene Placierung hat darin seinen Grund, daß die Blutverteilung im Magen der Mücke eine ungleichmäßige ist. Es war oben darauf hingewiesen, daß sich während des Sitzens und Verdauens der Mücken das Blut im hinteren Teil des Mitteldarmes (Magens) ansammelt; infolgedessen findet auch die Copulation der Gameten und die Entwicklung des Ookineten in diesem Teile des Magens häufiger und intensiver statt als in dem anderen Teil, wo sich meist das abgeschiedene Blutserum ansammelt. Die Ookineten suchen ihren endgültigen Ruheplatz auf dem geradesten Wege zu erreichen und siedeln sich daher im Fundus des Magens am meisten an. So entstehen nun auch dort mehr Cysten als im vorderen Teil.

Neben dieser vermehrten Anhäufung von Cysten im hinteren Magenabschnitt geht auch eine schnellere Reifung der dort gelegenen Cysten vor sich, so daß gelegentlich die erst entstandenen Cysten bereits Sichelkeime enthalten, während die anderen nur eben in ihren Anfängen stehen. Ich habe sogar geplatzte und von Sichelkeimen entleerte Cysten gefunden am 12. Tage, wo noch jüngste Anfänge im vorderen Teil des Magens wahrgenommen werden konnten.

Dies läßt sich z. T. wohl so erklären, daß die von der Wandung des Magens zunächst gelegenen und dort gebildeten Ookineten sofort sich in die Magenwandung einhohren und weiter entwickeln können, während die im Innern des Blutkoagulums ruhenden Ookineten erst später zur Einwanderung kamen. Andererseits ist aber auch die so ungleichmäßige Heranreifung der Cysten damit zu erklären, daß, wie wir oben bereits sahen, die Copulation zu ganz ungleicher Zeit erfolgt und bereits oft Ookineten gebildet waren, wenn noch Microgameten ausgesandt wurden.

Im Durchschnitt fand ich bei 27° bei den *Stegomyien* die Cysten am 13.—14. Tage nach dem Saugen völlig reif, während bei *Culex* die Cysten bereits im Mittel vom 10.—11. Tage zum Austreten

der Sichelkeime vorgeschritten waren. Allerdings gab es Ausnahmen. So konstatierte ich einmal bei *Culex*, daß die Cysten noch nicht am 15. Tage zum Sichelkeimaustritt befähigt waren, während in einem Fall bei *Stegomyia* am 8. Tage bereits Sporozoiten aus den Cysten heraustraten.

Andererseits fand ich auch *Stegomyien*, deren Speicheldrüsen bereits am 15. Tage mit Sporozoiten gefüllt waren, während am Magen noch unreife Cysten zu beobachten waren.

Derartige weit zurückgebliebene Cysten scheinen jedoch in vielen Fällen gar nicht ganz auszureifen. Anstatt daß Sporozoiten gebildet werden, entsteht in den Cysten ein krümeliger Inhalt, auch Blasen und Vacnolen werden sichtbar, oder es treten mehr oder weniger dickere Klümpchen auf, die mit Osmiumsäure schwarz werden (fettiger Zerfall?).

Experimentell lassen sich solche degenerierte Cysten hervorbringen, wenn man bei *Stegomyia* die Cystenbildung und -reifung durch Temperaturerniedrigung lange hinausschiebt. Bei Temperaturen unter 20°—22°, wo, wie oben erwähnt, erst nach 8 Tagen die ersten Anfänge zu sehen sind, kann man nach 20 Tagen ebenfalls noch unentwickelte Cysten sehen, welche niemals mehr ausreifen, sondern allmählich einer Degeneration anheimfallen, ohne daß damit der Mücke selbst anscheinend Schaden zugefügt wird. Ganz ähnliche Beobachtungen machte auch RUGE bei seinen *Culex-Proteosoma*-Studien.

Der dritte Punkt, der bei den Cysten außerordentlich variiert, ist die Menge derselben. Hier mag zusammenfassend gleich berichtet werden, daß die Zahl der entwickelten Cysten bei *Stegomyia* eine relativ kleine genannt werden muß, sowohl was die Anzahl der in einem Magen vorkommenden Cysten anbetrifft als auch die entwicklungsfähige Menge von Cysten bei den *Stegomyien* überhaupt. Um den Unterschied deutlich hervortreten zu lassen möchte ich nur anführen, daß ROSS bei der Untersuchung von 10 *Culex*-Mücken einmal 1009, ein anderes Mal bei 10 Mücken 292 Cysten zählte, d. h. pro Mücke 100, das andere Mal 29 im Mittel. In einem Falle fand er auf einem Mückenmagen 445 Cysten und GRASSI einmal am *Anopheles*-Magen bis 500. Für *Culex* kann ich die enorme Anzahl von Cysten, die sich gelegentlich bildet, vollständig bestätigen. Ich verfüge über verschiedene Präparate, wo die Menge ins Ungemessene steigt und in der Tat kein Platz am ganzen Magen zu finden ist, wo noch eine Cyste Platz hätte. In diesen Fällen dürfte die Zahl der Cysten nahe an 500 herankommen oder sie noch über-

treffen. Man kann die Zahl nicht absolut sicher ermitteln, weil der Magen nicht in einer Fläche ausgebreitet ist, sondern in Form eines Cylinders oder einer Trommel im Präparat vor uns liegt und die beiden Wände flach aufeinanderliegen, wobei sich die Cysten z. T. überdecken und nicht genau zu zählen sind. Von den höchsten Zahlen herab bis zu 20–30 Cysten findet man alle Abstufungen. Weniger als 20 Cysten am *Culex*-Magen — vorausgesetzt daß überhaupt Cysten entwickelt wurden — habe ich nicht gefunden.

Anders ist es bei *Stegomyia*. Hier fand ich nur einmal als Höchstzahl 36 Cysten, als niedrigste 1 Cyste. Die Zahl der Cysten ist bei *Stegomyia* sehr beschränkt und diese Erscheinung scheint ein Beweis dafür zu sein, daß sich *Stegomyia fasciata* überhaupt nicht für eine Weiterentwicklung von *Proteosoma*-Parasiten besonders eignet. Ich zählte bei 57 Mücken, die Cysten entwickelt hatten,

in	1 Falle	36 Cysten	
"	1	" 22	"
"	1	" 18	"
"	1	" 13	"
"	2 Fällen	11	"
"	4	" 9	"
"	9	" 8	"
"	11	" 7	"
"	16	" 5	"
"	4	" 6	"
"	4	" 3	"
"	2	" 1	"
"	1 Falle	2	"

Auch die Prozentzahl der *Stegomyien*, die Cysten entwickeln konnten, ist außerordentlich gering und beweist ebenfalls die wenig günstige Beschaffenheit der Mücke für die endgültige Ausbildung der Parasiten. Von 2573 *Stegomyien*weibchen, welche angesetzt wurden, sogen 789 = 30,7%. Davon starben im Lauf der Beobachtung 26. Von den übrigen 763 wurden zur Untersuchung für Microgameten und Ookinetenentwicklung 210 verbraucht. Die restierenden 553 waren zur weiteren Beobachtung bestimmt und es fanden sich unter 501 Mücken 57, welche Cysten entwickelt hatten = 11,4%. Die letzten 52 wurden zu Übertragungsversuchen verwendet und zur Präparation von Speicheldrüsen.

Meine Statistik über die Brauchbarkeit der *Culex* für *Proteosoma*-Entwicklung lautet viel günstiger: Unter 365 *Culex*-Weibchen sogen 234 = 64%. Davon starben 8 bei der Aufbewahrung. Von den übriggebliebenen 226 verwandte ich 102 zum Nachweis von Microgameten und Ookineten. 124 blieben zurück. Davon wurden 20 für Übertragungsversuche zurückbehalten und 104 auf Cysten untersucht. Dabei fanden sich 85 Mücken infiziert = 81,7%.

Ross berichtet, daß einmal von 245 *Culex* 178 = 72% Cysten entwickelten, ein anderes Mal von 81 *Culex* 76 infiziert waren = 94%. Diese Zahlen würden mit meinen Befunden bei *Culex* gut übereinstimmen. Es ist zu begreifen, daß ich im Anfang meiner Untersuchungen, als ich von der geringen Fähigkeit der Stegomyien Cysten zu entwickeln noch keine Ahnung hatte und den immer wiederkehrenden negativen Ausfall der Magenuntersuchung auf Cysten sehr entmutigt wurde, glaubte, die Entwicklung der Parasiten reiche überhaupt nur bis zur Ookinetenbildung. Erst die Wiederaufnahme mit großen Massen von Stegomyien brachte dann die Überzeugung und den Beweis, daß, wenn auch nur in 11,4%, aber doch eine Cysten-Sichelkeimbildung vor sich geht.

#### Ross'sche Körper oder „Blackspores“.

Die eigentümlichen Gebilde, welche Ross zuerst bei der Entwicklung von *Proteosoma*-Cysten im Mückenmagen sah, und die er zunächst als „Blackspores“ bezeichnete, haben auch alle späteren Forscher angetroffen. GRASSI z. B. fand sie bei *Anopheles*, KOCH und RUEE bei *Culex pipiens*. Ich konnte sie ebenfalls bei *Culex* und auch bei *Stegomyia* feststellen. Man findet sie nicht häufig, aber sie scheinen doch gelegentlich bei allen Stechmücken, welche Cysten entwickeln, vorkommen zu können. Der Grund ihres Auftretens, die Ursache ihrer Entstehung und ihre Bedeutung sind einstweilen noch nicht genau bekannt. RUEE hat ermittelt, daß regelmäßig Blackspores auftreten, wenn *Culex* an infizierten Sperlingen gesogen hatten, die an einer natürlichen Infektion litten. Sogen die Mücken dagegen an künstlich infizierten Kanarienvögeln, so fand er nur sehr selten Blackspores. Ich habe unter den 2573 Stegomyien, von denen 789 gesogen hatten, nur zwei Mücken mit blacksporeshaltigen Cysten gefunden und unter den 365 *Culex*, von denen 234 gesogen hatten, ebenfalls nur zwei Mücken mit diesen Gebilden. Es stimmt also jedenfalls die Beobachtung RUEE's, daß beim Blut-saugen von künstlich infizierten Kanarienvögeln nur sehr selten die

Blackspores auftreten. Damit ist aber über die Entstehung dieser Spores noch nichts weiteres gesagt. Da GRASSI die Ross'schen Sporen meist im Winter antraf, so läge die Möglichkeit vor, daß sie Degenerationsprodukte, durch Temperaturreinflüsse bedingt, sein könnten. Vielleicht gibt es verschiedene Einflüsse, die wir noch nicht kennen. Immerhin glaube ich aber, daß man wohl an der Annahme festhalten kann, daß die Gebilde Degenerationsformen von Sichelkeimen darstellen. Mein Material ist zu klein, als daß ich aus den wenigen untersuchten und gefundenen Cysten etwas Sicheres schließen könnte, doch kam ich zu der gleichen Auffassung dadurch, daß ich in allen beobachteten Cysten neben den veränderten auch normale Sichelkeime fand. Auffällig schien mir, daß auch in noch verhältnismäßig jungen Cysten schon derartige Gebilde zu finden waren, die sonst noch nicht soweit herangebildet sein konnten. Ich vermutete deshalb in den umgewandelten Sichelkeimen ein vorzeitiges hypertrophisches Wachstum der normalen Anlagen der Sichelkeime, welches alsbald zur Degeneration der Sporozoiten führen muß. Je älter letztere werden, desto grotesker werden ihre Formen und daher sieht man auch, wie es RUGE in seinen Malariastudien abbildet später zuweilen außerordentlich große, scharf gebogene z. T. abgehackte dicke Formen, welche das Mehrfache eines normalen Sichelkeimes an Stärke überragen. Zuerst, wenn die Umwandlung und das Wachstum der Blackspores beginnt, haben sie noch die Form von normalen Sporozoiten, werden alsbald aber dicker und dunkler. Das Protoplasma wird körnelig und schiebt sich z. T. zusammen, wie es bei degenerierten Schimmelpilzzellen und Bakterien oft zu beobachten ist. Dabei ist die Zahl der Blackspores in den Cysten stets eine sehr beschränkte im Vergleich zu den Hunderten von Sichelkeimen, die sonst entstehen. Ich zählte in manchen Cysten nur einige wenige, in anderen vollgefüllten im fast erwachsenen Zustande kaum mehr als 100 (Fig. 99 Tab. VI). Reifen die Blackspores weiter heran bis zum Platzen der Cysten, so zeigen sie dann recht verschiedene Formen, die zum Teil zwar plumper sind als normale Sporozoiten, aber doch noch an ihre ursprüngliche Form erinnern (Fig. 100 Tab. VI), oder aber sie wachsen zu so eigentümlichen großen gebogenen Formen aus.

Eine Bewegung der freien Blackspores konnte ich nicht beobachten.

### Die Sporozoiten in den Speicheldrüsen und die Übertragung derselben auf Kanarienvögel durch Stegomyien.

Nachdem die Sporozoiten aus den geplatzen Cysten in das Lakunom der Mücke gelangt sind, findet man sie bekanntlich nach einer gewissen kurzen Zeit in den Speicheldrüsen wieder. Für *Proteosoma* hat KOCH und RUGÉ nachgewiesen, daß sie sich bei *Culex* dort in den mittleren Lappen vornehmlich festsetzen. Die bei *Stegomyia* darauf gerichteten Untersuchungen ergaben, daß ebenfalls der mittlere Lappen der Speicheldrüsen bevorzugt ist. Ich habe nnr ein einziges Mal in einem Seitenlappen einzelne verstreute Sichelkeime gefunden, bei allen anderen, die ich untersuchte, sah ich aber den Mittellappen vollgefüllt. Die Ursache dieser eigentümlichen Abwanderung nach dem Mittellappen sucht LÜHNE auf das verschiedene Secret des Mittellappens und der Seitenlappen zurückzuführen.

Die Zeit, in der die Sichelkeime in den Speicheldrüsen vorgefunden werden, richtet sich natürlich nach dem Heranreifen der Cysten. Da letzteres im Mittel bei den *Stegomyien* am 13. bis 14. Tage beendet war, so konnte man auch in diesen Tagen bereits Sichelkeime vorfinden. Es machte mir den Eindruck, daß die Speicheldrüsen sich von Tag zu Tag mehr füllten, entsprechend der Menge der von Tag zu Tag mehr aus den Cysten austretenden Sichelkeime, dabei fanden sich, wie ich schon oben erwähnte, gelegentlich zu derselben Zeit noch ganz unentwickelte Cysten am Magen. Fig. 98 auf Tab. VI zeigt ein Stück des Mittellappens einer *Stegomyia fasciata*, aus welchem unter leichtem Druck eine größere Menge von Sporozoiten aus den Drüsenzellen ausgepreßt werden. Einmal fand ich schon am 10. Tage Sichelkeime in den Speicheldrüsen vor, was aber bei *Stegomyia* wohl als Ausnahme zu betrachten sein dürfte. KOCH sah sie bei *Culex nemorosus* gewöhnlich am 9. bis 10. Tage.

Die aus den präparierten Speicheldrüsen gewonnenen freien Sporozoiten bewegten sich in physiologischer Kochsalzlösung merklich, wenn auch nicht sehr lebhaft. Die Bewegung hörte aber im geheizten Mikroskop bei 37° nach 1 Stunde anf. RUGÉ untersuchte Sichelkeime aus den Speicheldrüsen von *Culex pipiens* in Kanarienserum und Kanariensblut und fand die Bewegung lebhaft und bei 41° viel länger dauernd (2—3 Stunden).

Freie Sichelkeime sind in Fig. 103 abgebildet. Beim Herauspressen aus Magencysten gelingt es zuweilen noch Stücke vom Rest-

körper, an denen die Sporozoitcn saßen, mit heranzubekommen. Fig. 102 und 101 zeigen solche in verschiedener Vergrößerung.

Es gelang mir nicht, unter den einzelnen Sporozoitcn die von SCHAUDINN gesehencn männlichen und weiblichen und indifferenten Formen zu beobachten; dagegen zeigte eine große Reihe von Sichelkeimen neben dem größeren Kern in der Mitte des Zelleibes noch einen zweiten kleinen Kern, der sich mit der Giemsa-Lösung deutlich sichtbar machen ließ. Dieser Kern dürfte dem Blepharoplasten der Trypanosomen entsprechen und es kämen solche Formen der von SCHAUDINN gekennzeichneten indifferenten Form mit undulierender Membran- und trypanosomenähnlichem Aussehen näher. Doch es fehlten unserer Form sowohl die undulierende Membran wie auch das Ansehen eines echten Trypanosomas. Sie waren einfach spindelförmig, an beiden Seiten zugespitzt und die Färbung blieb immer die gleiche.

Über das Verweilen der Sichelkeime in den Speicheldrüsen bei Stegomyien, falls letztere nicht durch den Stich sich derselben entledigen konnten, habe ich einige Versuche angestellt, welche ergaben, daß bei 27° in einem Zeitraum von 22 Tagen bei Fütterung mit Zuckerlösung sich noch Sichelkeime in den Speicheldrüsen vorfanden. Da ich den Rest meiner infizierten Mücken zu Stech- und Übertragungsversuchen reservieren mußte, so konnte ich weitere Beobachtungen, ob sich die Sichelkeime noch länger halten würden, nicht anschließen. Nach den von RUGÉ bei *Culex* gemachten Erfahrungen, wonach Sichelkeime noch nach 45 Tagen lebend und beweglich waren, ist an die Möglichkeit zu denken, daß auch die Sporozoitcn in der Speicheldrüse der Stegomyien länger am Leben bleiben.

Nachdem ich mich durch Präparation von einigen Mücken überzeugt hatte, daß die Sporozoitcn in die Speicheldrüsen eingewandert waren, setzte ich 40 Stück Stegomyien, die 20—25 Tage vorher am infizierten Kanarienvogel gesogen hatten und die ganze Zeit mit Zuckerlösung gefüttert worden waren, zu zwei Kanarienvögelchen, deren Blut von Parasiten frei befunden war. Die Vögel waren kurz geschoren und in die weitmaschige Drahtgaze eingewickelt. Im Verlauf von 1½ Stunden hatten im ganzen 26 Stück gestochen und Blut gesogen. Sechs weitere Mücken nahmen noch über Nacht Blut. Die letzten acht stachen nicht.

Bei der Blutuntersuchung der Kanarienvögel fand ich bei dem einen *Proteosoma*-Parasiten nach 8 Tagen, beim anderen nach 12 Tagen. Die Übertragung war

also gelunngen und der *Cyclus* geschlossen. Damit war auch der Beweis geliefert, daß *Proteosoma* in der *Stegomyia* weiter entwickelt werden und von ihr übertragen werden kann.

Die *Stegomyia*, welche nun zum zweiten Male Blut gesogen hatten, legten wieder Eier und hielten sich bei der Zuckernahrung weiterhin lebensfähig. Die Hälfte davon habe ich seziiert und bei einigen Reste von Sichelkeimen in ihren Speicheldrüsen gefunden, womit ich nachträglich noch die Garantie erhielt, daß wenigstens einige von den 40 angesetzten Mücken gefüllte Speicheldrüsen gehabt haben mußten. Die Cysten am Magen waren alle geplatzt und nichts mehr von Sichelkeimen vorhanden.

Einige von den überlebenden sogen 15 Tage später zum dritten Male Blut; ohne daß sie in dieser Periode abstarben. Im Gegensatz hierzu hatte KOCH beobachtet, daß *Culex nemorosus* nicht zum zweiten Male Blut sog, sondern nach dem Eierlegen abstarb.

Prüft man die Frage, von welchem Termin an *Stegomyia* von neuem übertragen kann, so wird man nach den vorliegenden Experimenten eine allen Verhältnissen Rechnung tragende Antwort dahin geben können, daß bei einer Durchschnittstemperatur von 27° (Tropenmitteltemperatur) innerhalb von 3 Wochen die neue Übertragung stattfinden kann.

In Anbetracht der Möglichkeit, die KOCH zuerst in Erwägung zog, daß die Übertragung der Parasiten durch die Eier auf die Nachkommen stattfinden könnte, habe ich bei jeder *Stegomyia*, welche Cysten hatte, die Eier untersucht, aber nirgendswo Sporoziten finden können. Es wäre dies von ganz besonderem Interesse gewesen, da ja MARCHOUX bei *Stegomyia* die Übertragung des Gelbfiebers auf die Nachkommen durch die Eier festgestellt hat. Eine praktische Bedeutung besitzt dieser Modus auch für die Verbreitung jener Seuche nicht.

Alles was in den Versuchen mit den brasilianischen *Stegomyien* beobachtet und erreicht wurde, gilt auch für die afrikanischen aus Togo. Es konnte in keiner Weise in der Ansiedlung und Heranreifung der Parasiten ein Unterschied konstatiert werden.

Die Übertragungsversuche mit *Proteosoma* durch *Culex pipiens*, welche ebenfalls glückten, bieten nichts Besonderes. Da sie auch von KOCH und RUGE bereits früher schon beschrieben sind, so erübrigt es mir darauf nochmals einzugehen.

Erwähnen will ich noch, daß pathologische Veränderungen unter den in der Gefangenschaft aus Eiern gezüchteten Stegomyien sehr selten sind. Ich habe in den an weit über 1000 seziierten Stegomyien nur zweimal etwas Pathologisches gefunden. Einmal eine merkwürdige Zweiteilung des Magens, indem aus dem Mitteldarm eine sackförmige Ausstülpung, die ca. die Hälfte des Magens betrug, herausgewachsen war und ein anderes Mal glockenartig pendelnde Cysten im Lumen des Magens. Sie hatten mit den *Proteosoma*-Cysten nichts zu tun, auch konnte ich diese Veränderungen mit keinem bei RUGE und ZIEMANN beschriebenen Parasiten- oder pathologischen Befund identifizieren.

### Zusammenfassung:

In den vorstehenden Untersuchungen und Experimenten wurde der Beweis erbracht, daß *Stegomyia fasciata* *Plasmodium praecox* (*Proteosoma*) durch Stich auf Kanarienvögel zu übertragen imstande ist und gleichzeitig wurde die Entwicklung der Parasiten im Magen und in den Speicheldrüsen der *Stegomyia*, die Copulation, Microgametenbildung, Cystenbildung und Sporozoitenentwicklung klargelegt.

Bisher wußte man nur, daß die Culiciden, *Culex pipiens*, *fatigans* und *nemorosus* *Proteosoma* übertragen konnten.

Die Stegomyien stammten aus Brasilien (Rio de Janeiro) und aus Afrika (Togo). Die Übertragung gelang mit beiden Arten in der gleichen Weise.

Als Parallelversuche dienten Experimente mit *Culex pipiens*, mit denen die Übertragung ohne Schwierigkeit ausgeführt werden konnte.

Im allgemeinen verläuft die ganze Entwicklung der Parasiten in der *Stegomyia* analog der Entwicklung von *Proteosoma* in *Culex* und Malaria in *Anopheles*.

Ein auffallender Unterschied besteht 1. in der weit geringeren Fähigkeit die Parasiten weiter zu bilden im Gegensatz zu *Culex*, 2. in der verzögerten Entwicklung aller Phasen der Parasiten, besonders der Ookineten, Cysten und Sporozoiten, und 3. in dem ziemlich unregelmäßigen Verlauf der Entwicklung.

Hieraus muß der Schluß gezogen werden, daß sich die *Stegomyia fasciata* für die Übertragung von *Proteosoma* relativ wenig eignet und praktisch wahrscheinlich keine sehr erhebliche Rolle dabei spielen wird. Von 2573 Stegomyien, die an infizierte Kanarien-

vögel gesetzt wurden, sogen nur 789 = 30,7%. Von 501 Stegomyien, welche Blut aufgenommen hatten, entwickelten nur 57 = 11,4% reife Cysten und Sichelkeime.

Von 365 *Culex*-Mücken sogen dagegen 234 = 64%. Und von 104 *Culex*, welche Blut gesogen hatten, entwickelten 85 = 81,7% reife Cysten und Sichelkeime.

Während die Dauer der Gesamtentwicklung vom Saugakt bis zum Einwandern der Sporoziten in die Speicheldrüsen bei *Culex* 9—11 Tage beträgt, verzögert sich die Entwicklung bei *Stegomyia* bis auf 13—15 Tage.

Die einzelnen Entwicklungsphasen verlaufen im Mittel in folgenden Zeitabschnitten (vom Saugakt an gerechnet):

Bei <i>Culex</i> :	Bei <i>Stegomyia</i> :
Microgametenbildung: ca. $\frac{1}{2}$ bis $\frac{3}{4}$ Std.	Microgametenbildung: ca. $\frac{1}{2}$ bis 1 Std.
Copulation: ca. $\frac{1}{2}$ —1 Std.	Copulation: ca. $\frac{1}{2}$ —1 $\frac{1}{2}$ Std.
Ookinetenbildung: ca. 10—12 Std. (Beginn), Hauptmenge nach 20 Std., Verschwinden der Ookineten nach 48 Std.	Ookinetenbildung: ca. 16 Std. (Beginn), Hauptmenge nach 26 Std., Verschwinden der Ookineten nach 72 Std.
Cystenbildung: ca. 30 Std.	Cystenbildung: Nie vor dem 3.—4. Tage.
Sporozitenbildung (in den Cysten): ca. 6—7 Tage.	Sporozitenbildung (in den Cysten): ca. 8—10 Tage.
Überwandern in die Speicheldrüsen: ca. 9—11 Tage.	Überwandern in die Speicheldrüsen: ca. 13—15 Tage.

Sämtliche hier angegebenen Daten beziehen sich auf eine konstante Temperatur von 27°, in der die Mücken gehalten wurden, und auf eine relative Feuchtigkeit von 75%—80%.

Vermindert man die Temperatur auf 20°—22°, so tritt in der Ookinetenbildung, Cystenbildung und Sporozitenbildung eine sehr wesentliche Verzögerung ein. Nur die Microgametenbildung und auch die Copulation werden nicht besonders beeinflusst.

Bei niedriger relativer Feuchtigkeit, etwa 40% verlangsamt sich die Entwicklung der Cystenanfänge auf mindestens 2 Tage.

Die Schwankungen in der Entwicklung bei niedriger Temperatur sind in allen Phasen sehr groß, so daß keine genauen Mittelzahlen sich angeben lassen und die Schwankungen in den Anfängen der Cystenbildung sind wiederum abhängig von der Copulation und der Aussendung der Microgameten.

Die Microgametenbildung spielt sich langsamer ab als wie bei

Malaria und *Halteridium* und geht auf dem Objektträger schneller vor sich als im Mückenmagen.

Die Aussendung der Microgameten hat seine Ursache in Dichtigkeitsdifferenzen des die Parasiten umgebenden Mediums (Blut, Serum, physiologische Kochsalzlösung). Auch die Temperatur und der Magensaft spielen eine Rolle.

Die Microgametenbildung der *Proteosoma*-Parasiten im *Stegomyia*-Magen weicht von der bisher bekannten Art der Entwicklung ab.

Es wurden Microgameten mit Verzweigungen (resp. in Teilung begriffen?) beobachtet.

Die Aufnahmefähigkeit von Blut in den Magen einer weiblichen *Stegomyia* bei einem Durchschnittsgewicht von 1,28 mg beträgt im Mittel 1,6 mg. Ein Männchen wiegt nur 0,86 mg.

Bei der Entwicklung der Cysten wurden auch solche mit Rosschen Körpern (Blackspores) aufgefunden. Sie sind als äußerst selten bei *Stegomyia* anzusehen, da unter 789 untersuchten Tieren nur 2 Exemplare derartige Cysten aufwiesen.

Es spricht vieles dafür, daß die Blackspores vorzeitig hypertrophierende und alsbald degenerierende Formen von normalen Anfängen von Sichelkeimen sind.

Bei den freien Sichelkeimen aus den Cysten und den Speicheldrüsen ließ sich ein zweiter kleiner Kern (Blepharoplast) beobachten.

Die Sporoziten in den *Stegomyia*-Cysten und Sichelkeimen zeigten nur schwache Bewegung.

Pathologische Veränderungen konnten bei mehr als 1000 genau untersuchten *Stegomyien* nur verschwindend wenig gefunden werden. In einem Falle fand sich ein geteilter Magen, im anderen Falle glockenförmig gestielte durchsichtige Cysten, die aber mit *Proteosoma*-Cysten nichts zu tun hatten und nicht als etwas Bekanntes diagnostiziert werden konnten.

#### Tafelerklärung.

GIEMSA-Färbung. LEITZ Obj.  $\frac{1}{12}$ , Oc. 4 = 1000:1.

#### Tafel IV.

Fig. 1—19. Schizogonie des *Plasmodium praecox*.

Fig. 1—3. Jüngste Parasiten im Kanarienvogelblutkörperchen.

Fig. 1 u. 3. Doppelinfektionen.

Fig. 2 u. 3. Polychromatophile Blutkörperchen.

Fig. 4. Das Protoplasma der Blntkörperchen ist zerfallen, der Kern etwas aufgequollen. Zwei junge Parasiten sind in der Nähe des Kernes zurückgeblieben.

Fig. 5. Kernloses Blntkörperchen mit halberwachsenem Parasiten.

Fig. 6. Parasit in Teilung begriffen. Der Kern des Blntkörperchens ist in typischer Weise auf die Seite gedrängt.

Fig. 7. Teilung des Parasiten vollendet im kernlosen Blntkörperchen.

Fig. 8. Das Protoplasma des Blntkörperchens ist zerfallen. Der Parasit ist frei geworden, hängt aber noch mit dem Kern zusammen. Die Teilungsstücke (Merozoiten) liegen noch beieinander. Das braunschwarze Pigment hat sich als kleines Klümpchen zusammengeschoben.

Fig. 9. Wie bei Fig. 8. Die einzelnen Merozoiten weichen auseinander.

Fig. 10. Teilungsfigur außerhalb des Blntkörperchens. Kleine „Gänseblümchen“form. Die Zahl der gebildeten Merozoiten ist bald größer, bald kleiner.

Fig. 11 u. 12. Freie Merozoiten.

Fig. 13—18. Zwergformen von Parasiten, die auf einem niederen Standpunkt der Entwicklung stehen geblieben sind. Sie finden sich vielfach frei im Blute, nachdem frühzeitig das Protoplasma des Blntkörperchens zugrunde gegangen ist und sie frei geworden sind. Gelegentlich gelangen die Formen noch bis zur Drei- und Verteilung (Fig. 16—18).

Fig. 19. Vollendete Dreiteilung im Blntkörperchen.

Fig. 20. Doppelinfection eines Blntkörperchens, welches bereits ganz aufgezehrt ist, mit einem weiblichen Gameten und einem Schizonten.

Fig. 21. Doppelinfection mit einem männlichen Gameten und einem Parasiten in vollendeter Teilung.

Fig. 22. Chromatophiles Blntkörperchen mit jungen Microgametocyten.

Fig. 23—26. Freie Microgametocyten. Die Größe derselben schwankt erheblich.

Fig. 27. Junger Microgamet im Blntkörperchen. Der Kern ist in der typischen Weise beiseite gedrängt.

Fig. 28 u. 29. Freie reife Macrogameten.

Fig. 30—36. Ungefärbte Präparate, beobachtet im hängenden Tropfen.

Fig. 30—32. „Geißelnde“ Microgametocyten, d. h. Aussendung von Microgameten aus den Microgametocyten. Ungefärbt.

Fig. 33. Microgametocyt nach Aussendung aller Microgameten. Drei Microgameten hängen noch am Microgametocyt.

Fig. 34—36. Microgameten, abgelöst vom Microgametocyt, zum Teil agglomeriert; die meisten sind körnig degeneriert.

Fig. 37. Microgametocyt nach Anstoßung des Protoplasmas. Das Chromatin hat sich bereits geteilt als Vorgang vor der Aussendung der Microgameten.

Fig. 38—42. Entwicklung, „Aufrollung“ der Microgameten aus den Microgametocyten. Die Microgameten gehen direkt aus dem Chromatin hervor. Das Pigment wird mit herangeschleudert.

Fig. 43. Freie Microgameten.

Fig. 44. Freie Microgameten mit „Verzweigungen“ (ob Teilung?).

#### Tafel V.

Fig. 45—47. Ungefärbte Präparate; Beobachtung im hängenden Tropfen.

Fig. 48—52. Weibliche Gameten (Macrogameten) während des Eindringens von Microgameten (Copulation).

Fig. 45. Macrogamet, stark pigmentiert, mit ausgesprochener Vorwölbung des Zellinhaltes an der Eintrittsstelle des Microgameten.

Fig. 46. Stark pigmentierter Macrogamet.

Fig. 47. Macrogamet mit Resten und degenerierten Fäden von Microgameten, die nicht in den Macrogameten eindringen konnten.

Fig. 48, 50, 51. Macrogameten, in die der Microgamet zum Teil bereits eingedrungen ist.

Fig. 49. Eindringen von zwei (?) Microgameten. Daneben ein freier Microgamet.

Fig. 52. Macrogamet, „umgeißelt“ von vielen Microgameten.

Fig. 53—56. Macrogameten kurz nach der Aufnahme des Microgameten. Neben einem großen Kern ist auch noch ein kleinerer sichtbar. (Nach SCHAUDINX: noch nicht verschmolzener Kern eines Microgameten.)

Fig. 57. „Überfruchtung“ durch einen zweiten Microgameten, der in den Macrogameten eingedrungen ist.

Fig. 58. Jüngster Ookinet. Ein Microgamet versucht vergebens hineinzugelangen.

Fig. 59—62. Ganz junge Ookineten; sie zeigen bereits Anfänge von Ausstülpungen.

Fig. 63—67. Ookineten mit beginnenden Fortsätzen. Man sieht bei Fig. 59, 60, 63 den noch nicht verschmolzenen Microgameten noch deutlich.

Fig. 68—71. Ookineten, sogenannte „Retortenform“.

Fig. 72—75. Ookineten, gestreckte Formen.

Fig. 76—80. Ookineten, gekrümmte Formen.

Fig. 74, 75, 78, 79. } Ookineten: möglicherweise { weibliche Formen.

Fig. 68, 69, 73, 76, 80. } Ookineten: möglicherweise { männliche Formen.

Fig. 81—92. Ookineten: Zerfallsformen. Das Protoplasma lockert sich zunächst auf und fällt dann auseinander, aber erst später zerfällt das Chromatin.

#### Tafel VI.

Fig. 93. Mitteldarm (Magen) von *Stegomyia fasciata*. 10 Tage nach dem Sangakt am infizierten Kanarienvogel. Der Magen ist besetzt mit neun fast angewachsenen Cysten. Ungefährtes Präparat. LEITZ Obj. 1, Oc. 2 = 22:1. a) Cysten, b) Tracheen, c) MALPIGHI'sche Gefäße (abgeschnitten), d) vorderer Teil des Magens, e) Kontraktionsfalten.

Fig. 94. Stück vom Magen von *Stegomyia fasciata* mit zwei jüngsten Cysten. 7 Tage nach dem Sangakt. Ungefährt. Die Cysten zeigen mehrere Pigmentkörnchen und sind an ihrem Reflex kenntlich. Sie liegen auf dem Magenepithel und sind mit diesem verbunden. Die Magenmuskulatur geht über die Cysten hinweg. LEITZ Obj. 7, Oc. 4 = 600:1. a) Cysten, b) Tracheen, c) Magenepithel.

Fig. 95. Stück vom Magen von *Stegomyia fasciata* mit einer jungen Cyste. 8 Tage nach dem Sangakt. Ungefährt. Die Cyste zeigt einen auffallend grünlichen intensiven Reflex (Vorstufe der Cysten mit ROSS'schen Körpern?) und ist stark körnig pigmentiert. LEITZ Obj. 7, Oc. 5 = 780:1. a) Cyste, b) Magenepithel.

Fig. 96. Stück vom Magen einer *Stegomyia fasciata* mit einer halberwachsenen und einer fast reifen Cyste. 11 Tage nach dem Sangakt. Ungefährt. Nach der Präparation mit Osmiumsäuredämpfen fixiert. Die kleinere Cyste grob granuliert als Vorstadium der Sporozitenbildung. In der größeren

Cyste zahlreiche Sichelkeime. Über die Cysten geht die contractile Magenmuskulatur hinweg. LEITZ Obj. 7, Oc. 4 = 600:1. a) Cyste vor der Sichelkeimbildung, b) Cyste mit Sichelkeimen, kurze Zeit vor dem Platzen, c) Magenepithel, d) contractile Magenmuskulatur.

Fig. 97. Stück vom Magen einer *Stegomyia fasciata* mit einer reifen Cyste. 14 Tage nach dem Sangakt. Ungefärbt. Nach der Präparation mit Osmiumsäuredämpfen fixiert. In der ziemlich durchsichtigen Cyste sind die „Restkörper“ mit groben Pigmentkugeln und die reifen Sichelkeime deutlich zu sehen. LEITZ Obj.  $\frac{1}{12}$  Imm, Oc. 4 = 1000:1. a) Cystenwand, b) Sichelkeime, c) Restkörper, d) Pigment, e) Epithelzelle des Magens, f) Magenmuskulatur.

Fig. 98. Stück vom Mittellappen einer Speicheldrüse von *Stegomyia fasciata* mit Sichelkeimen. 15 Tage nach dem Sangakt. Ungefärbt. Nach der Präparation mit Osmiumsäuredämpfen fixiert. Das Präparat ließ durch einen Druck auf die Drüse die Sichelkeime heraustreten. LEITZ Obj. 7, Oc. 5 = 780:1. a) Drüsenzellen, b) Speicheldrüsenausführungsgang, c) Speicheldrüsen.

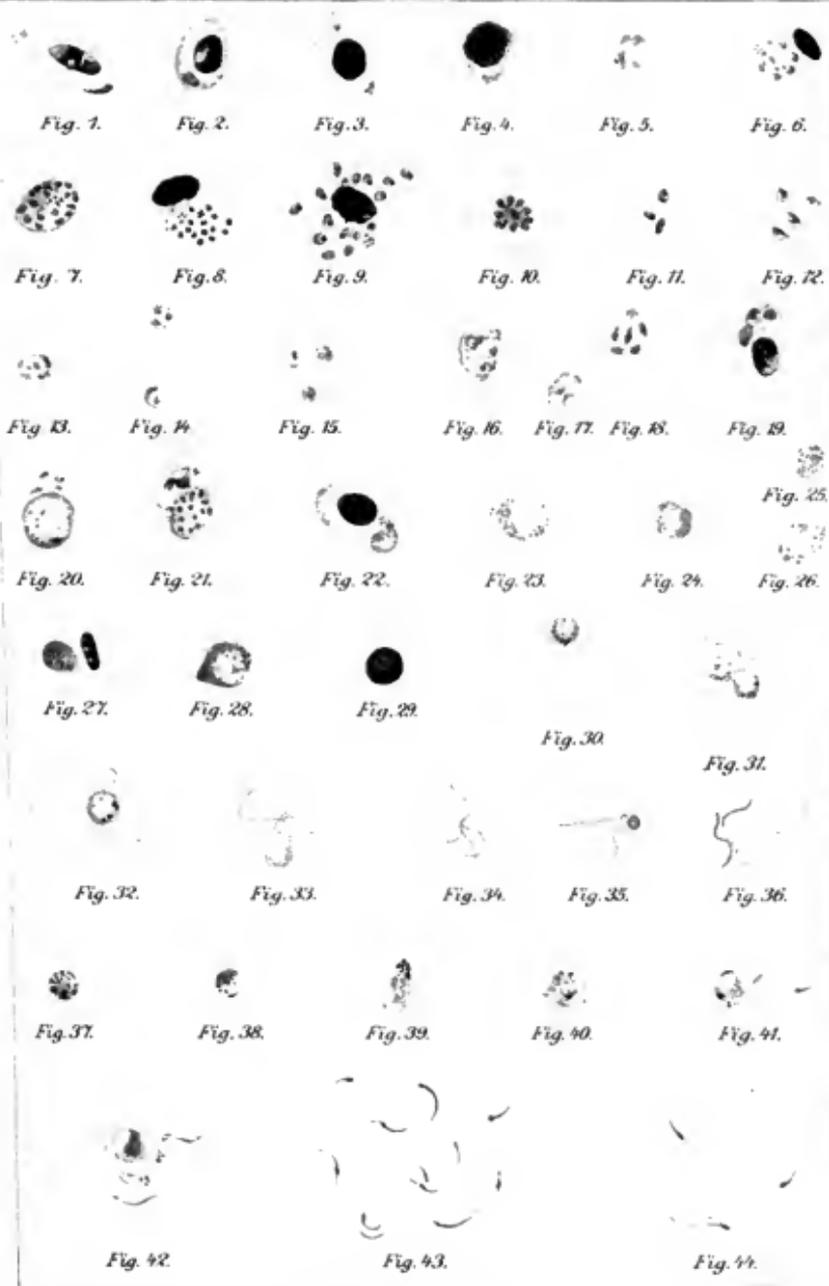
Fig. 99. Stück vom Magen einer *Stegomyia fasciata* nebst einer Cyste mit Blackspores (Ross'sche Körper). 13 Tage nach dem Sangakt. Ungefärbt. Die Cyste enthält wenig Sporozoiten, welche dunkel gelbbraun erscheinen. Vermutlich Degenerationsprodukte der Sichelkeime. LEITZ Obj.  $\frac{1}{12}$ , Oc. 2 = 650:1. a) Cyste mit „Blackspores“, b) Magenepithel.

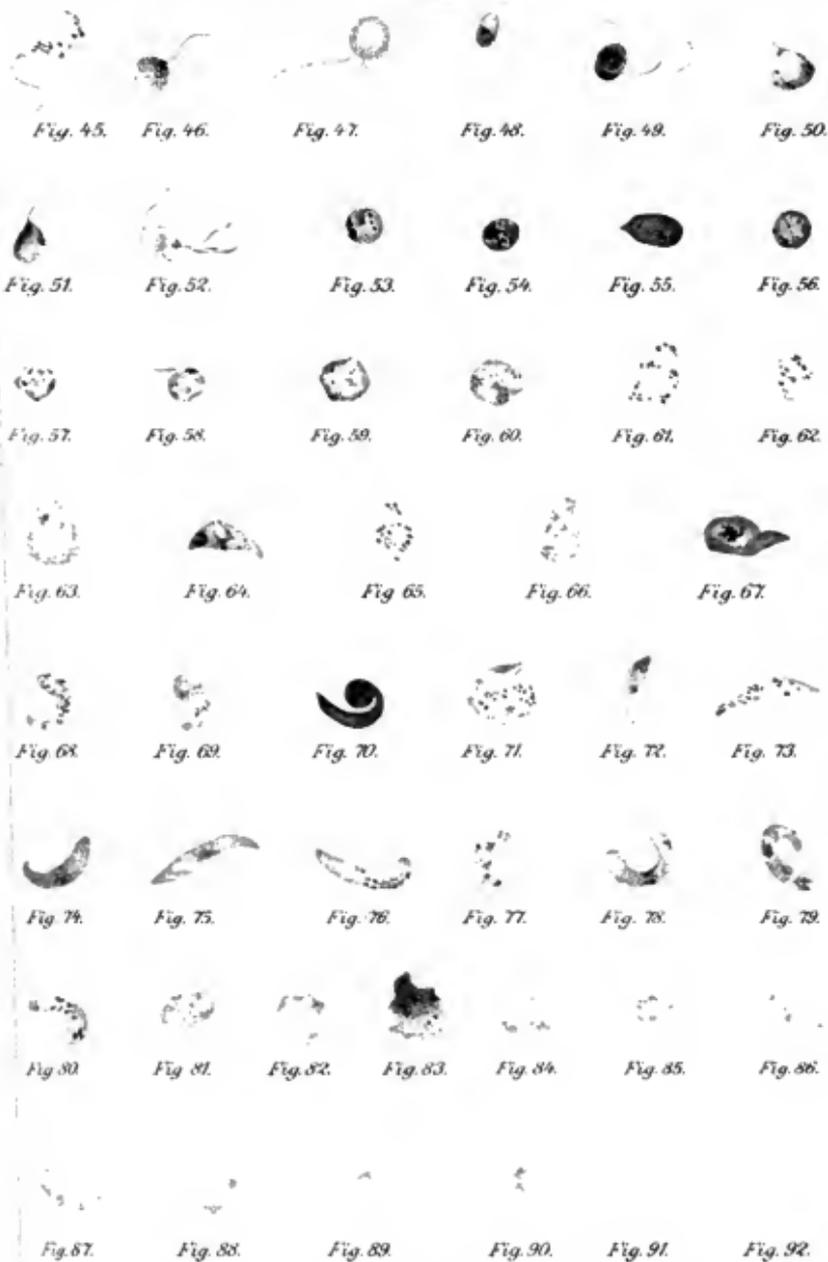
Fig. 100. Freie Ross'sche Körper (Blackspores). 15 Tage nach dem Sangakt. Ungefärbt. Die Gebilde sind kürzer, dicker, plumper als die gleichaltrigen geraden normalen Sporozoiten, dabei dunkel branngelb und unregelmäßig gefärbt. Die Form ist bald gestreckt, bald gekrümmt, bald an den Enden rundlicher, bald spitzer. LEITZ Obj.  $\frac{1}{12}$ , Oc. 4 = 1000:1.

Fig. 101. Sporozoiten am Restkörper sitzend. 14 Tage nach dem Sangakt. Mit Giemsa gefärbt. Gewonnen durch Ausdrücken einer reifen Cyste. An den einzelnen Parasiten kann man zwei Kerne beobachten, einen großen und einen winzigen kleinen. Letzterer würde dem Blepharoplasten der Trypanosomen entsprechen. Im Restkörper einzelne Vacuolen sichtbar. LEITZ Obj.  $\frac{1}{12}$ , Oc. 4 = 1000:1. a) Restkörper, b) Sichelkeime, c) Vacuolen.

Fig. 102. Dasselbe. 10 Tage nach dem Sangakt. LEITZ Obj.  $\frac{1}{12}$ , Oc. 4 = 1000:1.

Fig. 103. Freie Sporozoiten aus der Speicheldrüse. 15 Tage nach dem Sangakt. Mit Giemsa gefärbt. Die beiden Kerne deutlich sichtbar. LEITZ Obj.  $\frac{1}{12}$ , Oc. 4 = 1000:1.





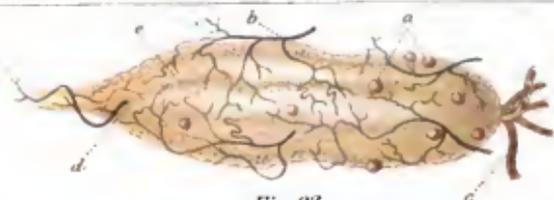


Fig. 93.



Fig. 96.



Fig. 94.



Fig. 95.



Fig. 97.



Fig. 98.



Fig. 99.



Fig. 102.



Fig. 100.



Fig. 101.



Fig. 103.

# 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: 1909

Band/Volume: [13 1909](#)

Autor(en)/Author(s): Neumann R. O.

Artikel/Article: [Die Übertragung von Plasmodium praecox auf Kanarienvögel durch Stegomyia fasciata und die Entwicklung der Parasiten im Magen und den Speicheldrüsen dieser Stechmücke. 23-69](#)