Notizen über Opalina ranarum

nebst Bemerkungen

über die Unterscheidung von Erythro- und Cyanochromatin.

Von

Dr. Waldemar Loewenthal (Hagenau i. Els.).

(Hierzu 1 Textfigur.)

Obgleich sehon seit mehreren Jahren mit Untersuchungen an Opolina ronarun beschäftigt, bin ich trotzeden durch die notwendige Erfullung dienstlicher Obliegenheiten anßerstande, zu einem Abschluß zu gelangen und mein angesammeltes Material zu verarbeiten; ich will deshalb außer Zusammenhang einige Beobachtungen hier mitteilen, soweit sie mir von Interesse und zur Vervollständigung unserer Kenntnisse der O. ronarun dienlich scheinen.

Ich habe mich insbesondere mit den Erscheinungen beschäftigt, die mit der Encystierung der Opalina in Zusammenhang stehen. Es ist seit den Untersuchungen von ENGLIMANN und VON ZELLER BEKANNI, daß die Infektion der Frösche mit diesem Darmparasiten im Kaulquappenstadium erfolgt durch Cysten, die von den zur Opalation ins Wasser gehenden Frösche nenteert werden. Würden nnn nur durch die erwachsenen Frösche die Cysten ausgeschieden, so müßten, da Rana temporaria erst mit vier Jahren geschlechtsreif wird (nach Luxurs Synopsis), die von der Kaulquappe aufgenommenen Opalinen vier Jahre im selben Tiere frei leben, bis dann erst wieder Encystierung einträte. Dies ist jedoch nicht der Fall, auch im Darm kleiner, noch nicht geschlechtsreifer Frösche encystieren sich die Opalinen im Frühjahr. — Soweit ich habe beobachten können, werden

die freien Opalinen nicht mit den Fäces ausgeschieden, wohl aber die Cysten. Es liegt dies daran, daß die Cysten und die sich encystierenden Tiere im Enddarm dem Kotballen innig beigemengt sind, während außerhalb der Encystierungszeit die Opalinen sich zwischen Kotballen und Darmwand aufhalten und im Innern des Kotballen nicht oder nur spärlich zu finden sind.

Ich hatte in meiner ersten Mitteilung angegeben, daß die Opalinen sich innerhalb der Cyste teilen könnten; ich hatte den angenommenen Teilungsprozeß nicht direkt verfolgt, sondern daraus erschlossen, daß ich Cysten fand, die zwei Tiere enthielten. Diesen Befund habe ich seither noch öfter machen können, er läßt aber nicht notwendig auf Teilung innerhalb der Cyste schließen, sondern es liegt auch die Möglichkeit vor, daß einige der von mir (und anscheinend auch von Przesmicky) gesehenen zweikernigen Cysten durch Vereinigung zweier Cysten entstanden waren. Mir fielen nämlich einmal in einem Praparat aus dem Darminhalt einer infizierten Kaulouappe, das ich im hängenden Tropfen untersuchte, zwei annähernd kugelige Cysten auf, die umeinander rotierten. Bei genauerer Betrachtung erkannte ich, daß die beiden Cysten an der Berührungsstelle durch ein Loch kommunizierten, und daß das eine der beiden Tiere höckerförmig in dies kleine Loch hineinragte. Unter fortwährender Rotation erweiterte sich die Verbindung, wobei das eine Tier dauernd durch die Öffnung hindurchzuschlüpfen suchte, nnd schließlich entstand unter meinen Augen allmählich aus beiden eine einzige, leicht sanduhrförmig eingeschnürte Cyste, innerhalb deren die beiden Tiere nun um die gemeinsame Längsachse rotierten.



Ich habe das Objekt in diesem Zustand mit Sublimat-Alkohol fixiert und mit Eisenhämatoxylin gefärbt (vgl. Textifg.); die Beobachtung dauerte schätzungsweise 15 Minuten. Welche biologische Bedeutung diesem merkwürdigen und bei Opalima anscheinend seltenen Vorgang zukommt, vermag ich nicht anzugeben; vielleicht handelt es sich um ein pathologisches Vorkommnis infolge der künstlichen starken Infektion.

Ich habe eine eigentimiliche Kerndifferenzierung bei den Opalinen zur Encystierungszeit beschrieben, daß nämlich aus der im Kerncentrum angesammelten chromatischen Masse ein kugeliger Körpet ausgestoßen wird, der sich der Kernperipherie anlegt, wodurch der Kern ein höchst charakteristisches Aussehen gewinnt. NERSBEIBERM, der diese charakteristischen Kerne ausführlich bespricht, läßt die Chromatincalotten an der Kernperipherie sich allmählich ansammeln; man findet aber bei Durchsicht eines größeren Materials immer wieder gelegentlich ein Exemplar, das den Austritt eines größeren Körpers aus der centralen Chromatinmasse zeigt (vgl. Fig. 6 meiner vorläufigen Mitteilung), so daß ich die von mir beschriebene Entstehungsweise aufrecht erhalten mnß. Neresheimer's Angabe, daß der Körper später aus dem Kern ansgestoßen wird und neben ihm zn finden ist, kann ich bestätigen. Ich hatte versncht, diesen Körper einem Micronucleus gleichzustellen. 1) doch ist diese Deutung nach NERESHEIMER'S Untersuchungen nicht mehr haltbar, sondern es ist wahrscheinlicher, mit Nebesheimer in dem Vorgang ein Analogon zur Richtungskörperbildung zu erblicken. Immerhin erscheint es nicht uninteressant, die Nathr dieser Körperchen etwas näher zu nntersuchen. NERESHEIMER bezeichnet ihre Substanz direkt als Chromatin, und hierzu ist man wohl auch ohne weiteres berechtigt, wenn man, wie ich es getan habe, Chromatin definiert als diejenige Substanz im Kern, die eine ausgeprägte Affinität zu den sog. Kernfarben, also Hämatoxvlin nnd Karmin, hat; freilich ist gerade mit Hämalaun die Färbung des in Rede stehenden Körperchens eine weniger intensive. Nun wird in den letzten Jahren die Rotfärbung bei Anwendung von Methylenazurfärbungen (Romanowski, GIEMSA usw.) gewissermaßen als Chromatinreaktion angesehen. Bei Färbung von Schnitten mit Giemsa-Lösung 2) tritt nun ausschließlich an den im Kerninnern befindlichen Chromatinpartikeln die Rotreaktion ein, das besprochene Körperchen dagegen färbt sich rein blan. Gerade umgekehrt ist das Verhalten bei Anwendung von Methylgrün in schwach essigsaurer Lösung, eine Färbung, die zeitweise als besonders sicher für den

¹) Die Ähnlichkeit mit der von Neresheimen entdeckten Entstehung des Micronucleus hei Ichthyophthirius ist sehr augenfällig.

⁷⁾ Ich wiederhole hier die an etwas versteckter Stelle (Zeitschr. f. Krebforschang Vol. 5 1007) angegebene Technik der Gizsens-Färhung von Schuittpräparaten: Färhung mit stark verdinnter Giemsalösung (6 Tropten anf 30 cem Aq. dext.), bis bei Gasgilbhicht die Zeilkerne rot erncheinen (6-9 Stunden, bei manchen Olijketen anch 24-30 Stunden), differenzieren in 70 und Spyrz. Alkholo, bis keine blauen Farhwolken mehr abgeben, danach möglichst rasches Entwässern, gründliches Abgebin des Alkholos imt Xylol, Kanudabalsun, Deckjans, Manche Präparate verderben nach einigen Jahren, was aber auch hel Trockenpräparaten mitonter vorkomm. Die Färhung mitlingt häufig und 1st mit nibser überhaupt nur nach Fixierung mit Sahlimat oder Snhimatalkohl gelungen. Die Rotfarbung ist bei bellen Amerikht besez ru erkennen, als bei Tacselicht.

Chromatinnachweis galt: nur die Körperchen färben sich, das Chromatin im Kerninnern bleibt ungefärbt. Bei Behandlung des unfixierten Materials mit verdännter Essigsäure tritt das beschriebene Körnerchen dentlicher hervor und bildet eine homogene, stärker lichtbrechende Masse, das übrige Chromatin bildet einen krümeligen Haufen in der Mitte des Kerns; nach Zusatz von Ammoniak werden beide Kernanteile in gleicher Weise unsichtbar, zeigen also beide gegen Essigsänre und Ammoniak das Verhalten von Chromatin. Ich habe das mit Ammoniak behandelte Material mit heißem Sublimatalkohol fixiert und mit Eisenhämatoxylin gefärbt und dabei gefunden. daß die beiden unsichtbar gewordenen Kernanteile nicht gelöst waren, sondern nur stark gequollen; besonders deutlich war die Veränderung an den Körperchen, die nach der Ammoniakbehandlung bedeutend größer waren und nicht homogen, wie gewöhnlich, sondern stark vakuolisiert. Die Essigsäurepräparate boten gefärbt denselben Befund wie ungefärbt. Die Chromatincalotten an den Kernen der freien Tiere vor der Encystierung stimmen in bezug auf alle Reaktionen mit den herausdifferenzierten Körperchen überein.

Die beiden Kernanteile verhalten sich also beide als Chromatin (abgesehen von der mangelnden Färbbarkeit des centralen Anteils mit Methylgrun), nur daß bei Giemsa-Färbung der eine Chromatinanteil sich rot färbt, der andere blan: von Leypen und ich haben gelegentlich der Untersuchungen an Entamoeba buccalis es für nicht angängig erklärt, dem sich blau färbenden Anteil etwa die Anerkennung als Chromatin zu versagen, und haben die rein descriptive Unterscheidung als Erythrochromatin und Cvanochromatin vorgeschlagen, indem wir die Möglichkeit offen ließen, daß sich die beiden so bezeichneten Modifikationen mit funktionell unterschiedenen Chromatinmodifikationen decken könnten. 1) Daß es tatsächlich verschiedene Chromatine gibt, wird in letzter Zeit durch immer zahlreichere Beobachtungen dargetan, bald durch Färbungsnnaucen, bald durch eigenartiges Verhalten bei der Kernteilung und den Geschlechtsvorgängen, und die tiefstgreifende Unterscheidung ist in der immer mehr Boden gewinnenden, auf Schaudinn zurück-

¹) Diese Unterscheidung ist, soviel ich weiß, bisher nur von Paowazzu und von E. Mieraans angenommen worden. Paowazus (Arh. a. d. kais, Gesundheitsamt Vol. 28 1946) hat unsere Angabe nüßverstanden: Die Kerne der Entomoele duccatie fätteben sich indett hald rot, hald blan, sondern ein bestimmter Anteil des Kerna nämlich der Binnenkörper, färbt sich rot, und ein anderer Kernanteil, die Periberie, blan.

gehenden Anschauung von dem durchgängigen Vorhandensein eines somatischen und eines Geschlechtschromatins gegeben.

Nun ist mir freilich die Abhängigkeit gerade der Giemsa-Färbung von der physikalischen Beschaffenheit (Dichte u. dgl.) des zu färbenden Objektes bekannt, dennoch aber erscheint mir das Verhalten bei Entamoeba buccalis und bei Opalina ranarum zu auffällig und konstaut, als daß ich die differente Färbung der verschiedenen Kernanteile als bloßen Ausdruck verschiedener physikalischer Beschaffenheit auffassen zu sollen glauben möchte, und ich glaube vielmehr einen inneren Unterschied zwischen Erythro- und Cyanochromatin annehmen zu müssen. Es drängte sich mir, im Verfolg von Schaudinn's Lehre von der prinzipiellen Doppelkernigkeit der Zelle, der Gedanke auf, ob die färberische Differenz der beiden Chromatine nicht hiermit in Zusammenhang stehen könnte, und so machte ich einige Färbeversnche an Ciliaten, bei denen ja das somatische und das Geschlechtschromatin als Macro- und Micronucleus getrennt ist. Ich nahm dasjenige Material, das mir am leichtesten in einer für Schuittpräparate ausreichenden Menge zu Gebote stand, Balantidien aus dem Enddarm des Frosches und die verschiedenartigen (für diesen Zweck nicht näher bestimmten) zahlreichen Infusorien aus dem Netzmagen und Pansen von Rind und Schaf. Das Ergebnis der Giemsa-Färbung war, daß, soweit die Rotreaktion zustande kam, entweder überhaupt nur der Micronucleus rot wurde und der Macronucleus blau, oder wenigstens der Micronucleus ein deutlicheres Rotviolett zeigte als der Macronucleus. Auch hierbei spielen offenbar physikalische Verhältnisse mit, denn ein aufgelockerter oder zerfetzter Macronucleus kann manchmal recht deutliche Rotreaktion zeigen.

Es geht also hieraus hervor, daß das Geschlechtschromatin als Erythro- und das somatische als Cyano-chromatin erscheinen kann; ob aber umgekehrt bei der färberischen Differenzierung zweier Chromatine jedesmal das Erythrochromatin als Geschlechtschromatin und das Cyanochromatin als somatisches anzusehen ist, diese Frage kann erst durch weitere Untersuchungen entschieden werden; zum mindesten hätte diese Annahme heuristischen Wert. Bei Opalina würde die Auffassung des Cyanochromatins als somatisches Chromatin recht plausibel sein: die beschrieben Heransdifferenzierung und Ausstoßung eines Körpers aus dem Kern würde die Befreiung des Geschlechtskernes von überflüssigen somatischen Chromatin bedeuten. Schwieriger sind die Verhältnisse bei Entamoeda buccolis, deren Chromidien aus Cyanochromatin bestehen, wenn man

annimmt, daß die weitere Entwicklung der Ambbe den von Schaudens bei Entameche histolytich eschriebenen Vorgängen entspricht; es ist aber über das Schicksal der Chromidien bei Entamoeba buccalis nichts bekannt, und es ist also sehr wohlt möglich, daß die von von Lyden und mir beobachteten, aus Cyanochromatin bestehenden Chromidien tatsächlich somatische Chromidien waren. Die Chromidien von Opalina, die nach Nezusankensen's Untersuchungen die Geschlechtskerne bilden, erweiseu sich in meinen Präparaten als Erythrochromatin, ein Verhalten also, das vollkommen zu der gemachten Annahme über die mögliche Bedeutung der Unterscheidung von Erythro-und Cvanochromatin aßt.

Hagenau i. E., 26. Februar 1908.

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: Archiv für Protistenkunde

Jahr/Year: 1909

Band/Volume: 13_1909

Autor(en)/Author(s): Loewenthal Waldemar

Artikel/Article: Notizen über Opalina ranarum nebst
Bemerkungen über die Unterscheidung von Erythro- und
Cyanochromatin. 115-120