# Studien über Sarcosporidien. I. Teil.

Von

### V. Breindl u. M. Komárek.

(Hierzu Tafel 27.)

Der vorliegende erste Teil unserer Studien soll neben einem kurzen Überblick über die wichtigsten Ergebnisse der bisherigen Sarcosporidienstudien auch unsere eigenen morphologischen und cytologischen Resultate und Ansichten über die Sporen dieser Parasitengruppe zusammenfassen.

Die Anregung für diese erste Mitteilung gab ursprünglich die Tatsache, daß es zwischen Protozoen eigentlich nur die Sarcosporidien sind, bei welchen der Kern noch nicht mit Sicherheit einstimmig festgestellt wurde. Deswegen haben wir eine Reihe mikrochemischer Kernuntersuchungen vorgenommen, deren Resultat wir an dieser Stelle erwähnen wollen.

Die Technik bestand aus der Feuchtfixierung der Ausstrichpräparate mit verschiedenen Fixationsmitteln (Osmiumdämpfe, heißes Sublimat, Formol mit Acid. acet. glac., Sublimatalkohol, Sublimatessigsäure, Zenker) sowie aus Schnittpräparaten (Flemming, Zenker, Rabel, Borell) mit nachträglicher Färbung mit verschiedensten Methoden. Hier müssen wir schon von vornherein hervorheben, daß sich die Schnitte, seien sie am besten fixiert, weniger zu den präzisen cytologischen Studien eignen als die feuchtfixierten Ausstriche. Es ist daher auf den Schnittpräparaten bezüglich der Form und der inneren Struktur der Sporen bei den Sarcosporidien derselbe Fall, wie bei den Blutelementen, welche selbst bei bester Fixation immer zur Schrumpfung neigen. Dementsprechend stammen unsere Abbildungen größtenteils von feuchtfixierten Ausstrichpräparaten.

## 1. Morphologie und Cytologie der Sporen.

In der ganzen Sarcosporidienliteratur gibt es über die Sporen so viele verschiedenen Ansichten, daß unserer Meinung nach ein kurzer Überblick derselben am Platze ist. Bezüglich der äußeren Form, herrscht im großen und ganzen in der Literatur gewisse Einstimmigkeit. Nur drei Punkte sind es, mit denen wir auf Grund unserer Beobachtungen nicht übereinstimmen können und zwar: die epimeritförmige Verlängerung des vorderen Poles, die Striation desselben und die Existenz des Polfadens (bzw. Flagellums).

Die Striation wurde schon als artefizielles Produkt von Perrier abgelehnt, der sehr richtig schreibt "est due uniquement a des fins plissements de la couche externe differenciée de la spore" und der auch nie diese Striation bei den absolut frischen Sporen beobachten konnte. Diese Eigenschaft sowie die epimeritförmige Verlängerung des Vorderendes, welche besonders von Alexeieff angegeben wird, haben wir nie weder bei lebenden noch bei fixierten Sporen bemerkt und halten wir dieselbe für ein künstliches Produkt. Wie die "Geißel" entsteht, zeigt uns am besten die Fig. 7 Taf. 27, wo wir bei einer mit Methylalkohol fixierten Spore in vordere Partie derselben ein geißelartiges sogar mit einem "Blepharoplast" ausgestattetes Gebilde sehen können. Daß es sich aber auch hier um eine degenerierte Form handelt, zeigt uns der Kernzustand. Die Chromatingranulen sind im Zerfließungszustande begriffen, wodurch derartige "Geißelstadien" vorgetäuscht werden. Wir haben solche Stadien ziemlich oft gesehen und halten dieselben für Produkte einer schlechten Fixation. Derartige Gebilde sind mit denjenigen, die bei den degenerierten Hämogregarinen von Finkelstein beschrieben wurden, und die wir bei denselben oft gefunden haben, fast identisch. Das geißelartige Gebilde entsteht unserer Ansicht nach durch das Zusammenfließen entweder der Kern- oder der metachromatischen Granulen. Ein ähnliches Stadium zeigt uns auch die Fig. 13 Taf. 27. Die eben angeführten Erfahrungen unserer Untersuchungen müssen die traditionelle Geißel der Autoren (v. Ratz, van Ecke, Pfeiffer) als artefiziellen Irrtum bezeichnen, abgesehen davon, daß ein unvoreingenommener Beobachter weder in vivo noch auf dem gut fixierten Material die geringste Spur eines derartigen Gebildes finden kann

In der Beziehung des Polfadens gilt die Erklärung, die wir eben über die Geißelexistenz gegeben haben. Durch Zusammenfließen der metachromatischen Granulen wird der Eindruck eines Polfadens hervorgerufen, was natürlich niemandem das Recht gibt, ein derartiges artefizielles eventuell degeneratives Gebilde für einen

ein derartiges artefizielles eventuell degeneratives Gebilde für einen den Cnidosporidien homologen Polfaden zu halten.

Was die "Polkapsel" anbelangt entsteht der bildliche Eindruck derselben dadurch, daß sich das Vorderende der Spore vom übrigen Körper derselben durch einen hyalinen Plasmahof unterscheidet, wobei zu bemerken ist, daß dieser hyaline Plasmahof durch ein Zusammenziehen des Entoplasmas und der metachromatischen Granulen in der Kernrichtung entsteht. Zwei Punkte sind dabei sehr wichtig. Erstens schwindet die "Polkapsel", sobald sie von den metachromatischen Granulen verdeckt wird (vgl. Fig. 6 Taf. 27 und die Abbildungen Armynger's Nr. 16, 18, 27). Zweitans ist die Form der bildungen Alexeieff's Nr. 16—18, 27). Zweitens ist die Form der hyalinen Plasmapartie nicht konstant (siehe Fig. 4 u. 5 Taf. 27), was besonders deutlich gegen die Existenz einer geformten Polkapsel spricht. Wir hoffen, daß diese kurze Erklärung zur endgültigen Beseitigung der unrichtigen Beobachtungen von van Ecke, Watson, Rh. Erdmann u. a. genügen wird.

RH. ERDMANN u. a. genügen wird.

Viel interessanter aber auch viel schwieriger ist die Frage des Kernes. Hier zirkulieren so viele sich widersprechende Ansichten, daß man, falls man die ganze Literatur übersieht und ein klares Bild haben will, schließlich in Verwirrung geraten muß. Natürlich soll man nicht nur die Morphologie, sondern auch die Mikrochemie aller von verschiedenen Autoren als Kerne angesehenen Gebilde berücksichtigen. In der Literatur gibt es über die Natur des Sarcosporidienkernes zweierlei Ansichten. Die Mehrzahl der Autoren hält für den Kern die Gruppe von mehr oder weniger gleichgroßen Granulen, die sich näher dem stumpfen Ende der Spore befinden (Teichmann, Alexeieff, Betegh, Negri, Négre, Moroff u. a.). Hartmann, Wasielewski und Rh. Erdmann bezeichnen als Kern ein rundes Korn, das sich fast in der Mitte der Sporen befindet, und halten dagegen den Kern der obengenannten Autoren für den Fadenapparat.

Auf Grund unserer mikrochemischen und cytologischen Untersuchungen müssen wir nun als echten Kern eine mehr oder weniger scharf begrenzte Gruppe der nach Giemsa sich stets rot färbenden und in der stumpferen Sporenhälfte befindlichen Granulen (Taf. 27 Fig. 4, 5) ansprechen. Die Berichtigung sehen wir in den Färbungsreaktionen (Delafield, Magenta, Soda-Gentianaviolett, Giemsa, Breindls Methode u. a.), welche immer in derselben Weise verlaufen und die Kernstrukturen von allen übrigen "metachromatischen" sich in der nächsten Umgebung des Kernes

befindenden Granulen stets distinkt abheben. Eine Kernmembran konnten wir nur auf den feuchtfixierten Präparaten finden (Taf. 27 Fig. 1, 2). Im ganzen hat der Kern eine ovale Form (Fig. 1, 2), und enthält in seiner homogenen Grundsubstanz nach solchen Fixationsmitteln, die das Eintrocknen der Ausstriche nicht ausschließen können (Osmiumdämpfen, Formol), mehrere gewöhnlich gleich große Körner. Merkwürdigerweise haben wir auf mit Osmium und Formol behandelten Präparaten in dem Kern nie einen Nucleolus gefunden.

Deswegen wollen wir aber seine Existenz nicht bestreiten, um so weniger da die mit Zenker oder Sublimatessigsäure fixierten Präparate uns die Anwesenheit des Nucleolus ständig gezeigt haben. Diese schönen Praparate, bei deren Herstellung jede Eintrocknungsmöglichkeit von vornherein ausgeschlossen wurde, haben wir mit Bram-Soda-Van Gieson-Methode (nach Breindl) gefärbt. Im absolut homogenen Kern, der keine Körnelung aufweist, und dessen Chromatin sich schön rosa färbt, sehen wir im vorderen Pole des Kernes einen tiefrot sich färbenden Nucleolus, der in der Hauptsache bezüglich seine Größe die "metachromatischen" Granulen etwas übertrifft. Seine Lage im Kerne ist fast konstant, d. h. er liegt im vorderen Pole desselben. Nur ausnahmsweise treffen wir ihn auch auf entgegengesetztem Ende des Kernes. Dieser Nucleolus wird fast immer von einem hellen Hofe umgeben und weil das Nucleolusgebilde manchmal der Größe nach den "metachromatischen Granulen fast gleichsteht, können leicht Verwechslungen entstehen. Wir können also dieses "Nucleolusgebilde" gemäß den älteren Ansichten entweder für ein Caryosom, oder im Sinne der neueren Gedanken von Bělař für einen normalen Kernnucleolus halten. Derselbe ist aber bei Sarcosporidien für den Vergleich mit den "Kernen" von Hartmann und Rh. Erdmann sehr wichtig.

Wenn wir die Größe, Lage und tinktorielle Eigenschaft der "Kerne" der letztgenannten Autoren mit unserem Nucleolus vergleichen, sehen wir, daß es sich um ein und dasselbe Gebilde handeln muß. Am besten sichtbar ist es auf Präparaten, welche mit Heidenhain, der wie bekannt, die größte Affinität speziell für den Nucleolus ausweist, gefärbt wurden.

Eine derartig gefärbte Spore zeigt uns Fig. 3 Taf. 27. Hier sehen wir nach Heidenhain-Färbung an der Grenze der ersten und zweiten Drittel der Spore unseren Nucleolus mit hellem Hofe wieder. Dieses Gebilde ist ganz sicher der "Kern" im Sinne Hartmann's und Rh. Erdmann's und falls wir dasselbe mit dem Nucleolus in den

Fig. 1, 2 Taf. 27 vergleichen, erleuchtet klar, daß beide identifiziert werden müssen.

Die Gründe für unsere Deutung als Nucleolus sind folgende: 1. Weil der Nucleolus fast immer im vorderen Pole des Kernes

- 1. Weil der Nucleolus fast immer im vorderen Pole des Kernes gelegen ist, deckt sich seine Lage vollkommen mit derjenigen des "Kernes" von Hartmann und Rh. Erdmann.
- 2. Seine tinktorielle Eigenschaft ist dieselbe wie bei jedem Nucleolus.
- 3. Die mikrochemische Reaktion auf Chromatin (Reaktion nach Feulgen) ist vollkommen negativ ausgefallen.

Unseren Beobachtungen stehen diejenigen von Alexeieff am nächsten. Leider sind einige seiner Abbildungen, was den Nucleolus anbelangt, wenig überzeugend, denn dasjenige, was dieser Autor als Nucleolus beschreibt, kann manchmal ebensogut für ein "metachromatiches" Granulum gehalten werden, und dies um so mehr, da sich der Nucleolus nach Alexeieff sehr oft auch außerhalb des Kernes befindet (vgl. seine Abb. 10—12, 17—18, 21—22, 31—32). Man muß seinen Beobachtungen zugeben, daß sie im Gegensatz von allen bisherigen Untersuchungen mit der Wirklichkeit am meisten übereinstimmen.

Den zweiten Grund für unsese Behauptung bezüglich der richtigen Deutung des Kernes sehen wir in der Teilung der Sporen. An der Teilung partizipiert tatsächlich dasjenige Gebilde, welches wir für den Kern halten (Taf. 27 Fig. 6, 9, 11, 12, 14). Darüber werden wir später näher referieren.

Den dritten Grundstellt uns schließlich die mikrochemische Chromatinreaktion, deren Ergebnisse sich aus der folgenden Übersicht erklären, vor.

	Kern	Volutin	Plasma
Mayer-Methylenblau 1 proz. H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> HCL-Methylenblau HNO <sub>3</sub> HCL-Fuchsin HNO <sub>3</sub> -Fuchsin Lugol HCL-Giemsa Nuclealreaktion nach Feulgen	 +++    +++ ++	+? - - - +? +	Vakuole?

# 2. Die Teilung der Sporen.

Da dieser bei Sarcosporidien so oft vorkommende Prozeß schon lange bekannt ist, haben wir nicht die Absicht auf dieser Stelle

eine historische Übersicht zu wiederholen und wollen nur die Teilung sowie auch einige Abnormitäten derselben als grundlegendes Problem

sowie auch einige Abnormitäten derselben als grundlegendes Problem der Sarcosporidien zur Rede bringen.

Die erste Frage, die wir an alle, die sich mit Sarcosporidien beschäftigt haben, stellen, ist folgende: sind das wirklich fertige reife Sporen, die man ziemlich oft in der Teilung begriffen findet?

Vergleicht man die verschiedenen Teilungsbilder, so sieht man, daß sich diese "Sporen" von den übrigen "Sporozoiten" schon in dem Moment, wo die Kernteilung einzutreten beginnt, durch viel größere Weite und fast ovale Form unterscheiden (Taf. 27 Fig. 12). Aus diesen Gründen halten wir die Teilungsformen nicht für reife Sporen, sondern für in der Teilung sich verspätete Sporen voransgesetzt daß es sich zeigen wird. spätete Sporoblasten, vorausgesetzt, daß es sich zeigen wird, daß die Sarcosporidien mit den Microsporidien näher verwandt sind. Alle die Sporenteilungen, die wir und unsere Vorgänger abgebildet haben, sind mit den von Negri bei Sarcocystis muris als Sporo blastenteilung beschriebenen Figuren vollkommen identisch.

Falls aber die Verwandtschaft mit den Microsporidien auf Grund der Entwicklungsstudien definitiv abgelehnt wird, wird es sehr fraglich sein, ob es sich tatsächlich bei diesen Gebilden um Sporen handelt. Denn eine Teilung von schon fertigen Sporozoiten wäre überhaupt gegen alle unsere Erfahrungen über die Protozoenvermehrung. Neben der normalen Zweiteilung haben wir einen sehr interessanten Fall einer Dreiteilung der Spore gefunden, wie er auf der Fig. 9 Taf. 27 abgebildet wurde. Merk-würdigerweise hat diese Teilung die Form einer fertigen Spore. Die Kerne sind kompakt und sehr intensiv gefärbt. Ähnliches, jedoch zeitlich jüngeres Stadium zeigt Fig. 13 Taf. 27. Wir setzen aber voraus, daß, da es sich um Präparate, die mit OsO<sub>4</sub> fixiert wurden, handelt, eine Degeneration oder eher ein Artefakt nicht vorher ausgeschlossen werden darf.

Schließlich wollen wir bei dieser Gelegenheit auch auf eine sehr häufige Erscheinung bei den "Sporozoiten" aufmerksam machen, und zwar auf das häufige Abwerfen der vorderen Drittel des Körpers samt den "metachromatischen" Granulen. Die Konturen des übrig bleibenden als auch des abgeworfenen Teiles sind sehr scharf und zeigen keine mechanische Beschädigung (Taf. 27 Fig. 8, 10). Die ganze Sache hat etwas Ähnlichkeit mit dem Abwerfen des Pigmentes bei Malariaookineten. Der restliche Teil des verstümmelten Sporozoiten hat immer einen kompakten Kern, der sich mit Kernfarbstoffen intensiver färbt, als der Nucleus der normalen

Sporen. Solche Individuen sind sehr häufig (hauptsächlich in den alten Schläuchen), und so weit uns bekannt ist, wurden sie bis jetzt nicht abgebildet. Ob es sich dabei um degenerative Prozesse, oder um eine autoregulative Erscheinung (im Sinne der Kernplasmarelation) handelt, was vielleicht mit der fortschreitenden Degeneration in der Peripherie des Schlauches zusammenhängen könnte, ist schwer zu entscheiden.

Noch eine Sache ist der Erwähnung wert. Wir haben sehr oft auf gut fixierten Osmiumpräparaten solche Stadien gesehen, wie sie eben die Fig. 1 a Taf. 27 zeigt, bei welchen von einer Kern- oder Plasmadegeneration keine Spur war, die aber in der Größe hinter den gewöhnlichen Sporen standen. Man könnte in diesem Falle annehmen, daß sich die Sporozoiten gegen eine eventuelle Vernichtung durch die autoregulative Prozesse schützen, und daß auf diese Weise ein Dauerstadium entsteht, welches bei der Artbewahrung eine wichtige Rolle spielt. Anderseits kann die Möglichkeit nicht ausgeschlossen werden, daß, da es sich nur um Osmiumpräparate, bei welchen Eintrocknung nicht ausgeschlossen ist, handelt, daß diese Stadien durch artefizielle Schädigung entstanden sind. Natürlich sind unsere Kenntnisse über das weitere Schicksaal der Sporozoiten so lückenhaft, daß ein entscheidendes Schlußwort unmöglich ist.

Zum Schluß wollen wir als Resultat unserer Beobachtungen, die wir gleichzeitig mit allen wichtigen Literaturangaben verglichen haben, das morphologische und cytologische Resumé der Sarcosporidienspore folgend zusammenfassen:

Die Spore ist bananenförmig, in demjenigen Körperteile, wo sich der Kern befindet, weniger (!) stumpf als an dem entgegengesetztem. In dem hyalinen Grundplasma befinden sich viele "metachromatische" Granula mehr nucleotropisch oder ausnahmsweise näher dem vorderen Pole gelegen, welche artefiziell oder degenerativ zusammenfließen können. Im ersteren Falle kommt am vorderen Pole das hyaline Grundplasma zum Vorschein, womit eine Polkapsel vorgetäuscht wird, im zweiten Falle dagegen wird wieder der Eindruck eines Fadenapparates hervorgerufen. Der Kern liegt immer in dem hinteren spitzigen Drittel des Körpers, zeigt eine mehr oder weniger deutliche Kernmembran und färbt sich nach der Feuchtfixierung homogen. In seinem vorderen Ende

befindet sich ein intensiv sich färbender Nucleolus, der, wie durch das Vorhergesagte erklärt wurde, mit dem "Kerne" Hartmann's und Rh. Erdmann's vollkommen identisch ist.

#### Literaturverzeichnis.

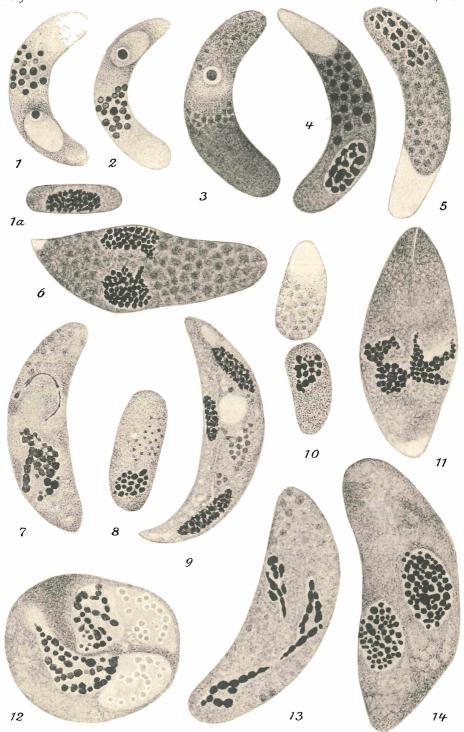
- 1) TEICHMANN, E.: Sarcosporidien. in: PROWAZEK'S Handb. d. path. Protozoen 1912. Hier auch die Literatur bis zum Jahre 1912.
- 2) Erdmann, Rh.: Zu einigen strittigen Punkten der Sarcosporidienforschung. Arch. de Zool. expér. et gén. 1914.
- 3) Alexeieff, A.: Recherches sur les Sarcosporidies. Ibid. 1913.
- 4) Moroff, T.: Zur Kenntnis der Sarcosporidien. Arch. f. Protistenk. Bd. 35.
- 5) ERDMANN, RH.: The schizogony in the life-cycle of Sarcocystis muris. Proc. Soc. exp. Biol. and Med. Vol. 11 1914.
- 6) HARTMANN-SCHILLING: Pathogene Protozoen. 1917.
- 7) BRUMPT, E.: Precis de parasitologie. 1922.
- 8) Fiebiger: Tierische Parasiten. 1923.
- 9) HARTMANN, M.: Protozoa. in: Kükenthal's Handb. d. Zool. 1925.
- 10) Arai Kei: Beitrag zur Infektion der Maus mit Sarcocystis tenella. Arch. f. Protistenk. Bd. 50 1925.
- 11) Breindl, V.: Revision der Cytologie der Sarcosporidien. Vortrag am X. intern. Zool. Kongr. Budapest 1927.

## Tafelerklärung.

Tafel 27.

Alle Figuren wurden mittels Reichert's Zeichenkamera bei derselben Vergrößerung (Leitz <sup>1</sup>/<sub>12</sub>" Hom. Imm., Zeiss Comp. Oc. 18) hergestellt.

- Fig. 1. Reife Spore; Kern mit deutlicher Nucleolus-Zenker-Breindls-Methode.
- Fig. 1a. Dauerstadium der Spore?
- Fig. 2. Reife Spore aus derselben Infektion; Sublimat-Essigsäure-Methode Breindl.
  - Fig. 3. Reife Spore mit "Kern" (RH. ERDMANN). Formol-Heidenhain.
  - Fig. 4. Hyalines Plasma täuscht die Polkapsel vor; OsO4-Giemsa.
  - Fig. 5. Dasselbe.
  - Fig. 6. Teilung der Spore; Formol-Giemsa.
  - Fig. 7. Geißelstadien (?). Methylalkohol-Giemsa.
  - Fig. 8 u. 10. Zwei Stadien im Begriff einer Dekolation. Methylalkohol-Giemsa.
  - Fig. 9. Spore mit drei Kernen; Osmium-Giemsa.
  - Fig. 11-14. Teilung der "Spore"; Osmium-Giemsa.



VEDI A

Breindl u. Komarek.

Breindl ad nat. delin.

# **ZOBODAT - www.zobodat.at**

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: Archiv für Protistenkunde

Jahr/Year: 1928

Band/Volume: <u>62 1928</u>

Autor(en)/Author(s): Breindl V., Komárek M.

Artikel/Article: Studien über Sarcosporidien. I. Teil 408-415