

*Nachdruck verboten.
Übersetzungsrecht vorbehalten.*

Aus der medizinischen-protozoologischen Abteilung des Microbiologischen Forschungs-institutes des Volksunterrichtskommissariats der USSR. in Moskau.

Morphologie und Cytologie von *Anoplophrya* sp. aus dem Regenwurmdarm.

Von

E. V. Eksemplarskaja.

(Hierzu Tafel 10—12.)

1. Einleitung.

Das hier beschriebene, im Regenwurmdarme (*Lumbricus terrestris*) schmarotzende Infusorium gehört zu den Astomata, einer großen Gruppe von parasitischen Infusorien, deren Vertreter bei vielen wirbellosen Tieren verschiedener Klassen (Arthropoda, Molluska, Vermes, Vermoidea) vorkommen und sich in verschiedenen Organen ihrer Wirte ansiedeln.

Die Frage der Systematik der Astomata ist bis jetzt noch nicht endgültig gelöst; das Übersichtsreferat von CÉPÈDE beruht auf einem umfangreichen Material von Infusorien aus der Gruppe der Astomata, trotzdem konnte noch nicht jedem einzelnen Vertreter ein endgültiger Platz im System angewiesen werden. Nach Ansicht der neuesten Forscher (ROSSOLIMO) muß diese Gruppe einigen Abänderungen und Vervollständigungen unterworfen werden, da viele neue Arten gefunden worden sind und auch die systematische Einordnung der bisher bekannten Arten einer sorgfältigen Revision bedarf.

Für eine Überprüfung der ganzen Gruppe der Astomata spricht ferner, daß hierdurch nach ROSSOLIMO die Möglichkeit gegeben sein wird, unter ihren Vertretern eine ganze Reihe von Übergangsformen

in bezug auf ihre parasitäre Spezialisierung festzustellen und die verlorene Verbindung mit einigen Gruppen freilebender Infusorien wiederherzustellen.

Das von mir gefundene Infusorium gehört nach der Einteilung CÉPÈDE's zur Familie der *Anoplophryidae*, die morphologisch durch einen bandförmig gestreckten Macronucleus eine gleichmäßige Bewimperung und eine recht bedeutende Zahl von kontraktilen Vakuolen, die in einer oder in zwei Längsreihen angeordnet sind, charakterisiert wird. Ferner ist allen Vertretern dieser Familie die Eigenschaft eigentümlich, daß sie nur im Darm schmarotzen.

Sie werden bei einer ganzen Reihe von Wirbellosen gefunden, hauptsächlich aber bei den Würmern, sowohl Oligochäten, wie Polychäten. Ihre zoogeographische Verbreitung ist ebenfalls sehr mannigfaltig: einzelne Arten der Familie *Anoplophryidae* wurden in Frankreich (CÉPÈDE), in Algier (DUJARDIN) und im Norden der USSR. — im Barentsmeer und im Baikalsee (ROSSOLIMO) angetroffen.

Ich erhielt die Würmer, bei welchen ich die beschriebene Infusorienart aufgefunden habe, aus einem Vorort von Moskau und zwar aus der Umgegend der Timirjasev'schen landwirtschaftlichen Akademie. Die erwähnten Infusorien, die ich *Anoplophrya* sp. nannte, bilden den Gegenstand der vorliegenden Untersuchung. In dem Darm der Würmer fanden sich noch andere Vertreter der Gruppe Astomata, allerdings in sehr viel geringerer Anzahl, auf deren Morphologie ich kurz eingehen will.

Hoplitophrya hamata ist die größte der bekannten Formen, sie ist 170 μ lang und 60 μ breit.

Der Körper des Infusoriums ist von unregelmäßiger Form, am Vorderende leicht zugespitzt, am Hinterende schräg abgeschnitten. Macronucleus bandförmig. Bewimperung gleichmäßig.

Zwei Reihen kontraktiler Vakuolen, deren Zahl unkonstant ist. Ein sehr eigenartiger Befestigungsapparat in Form eines gebogenen Hakens, dessen kürzerer Teil der einen und dessen längerer Teil, gewissermaßen der Griff des Apparates, der anderen Körperseite anliegt.

Maupasella nova CÉPÈDE — 40 μ lang und 15 μ breit, ist von schmaler, gleichmäßig an beiden Enden abgerundeter Form. Der Macronucleus ist bandförmig. Bewimperung gleichmäßig.

Der Befestigungsapparat hat das Aussehen eines kleinen Schnabels am vorderen Körperende.

Zwei Reihen kontraktiler Vakuolen von wechselnder Zahl.

Und schließlich der dritte Vertreter der Astomata, die *Anoplophryidae*, ist von recht veränderlicher Größe, zwischen $80\ \mu \times 30\ \mu$ und $50\ \mu \times 20\ \mu$.

Körperform gleichmäßig oval.

Macronucleus bandförmig. Bewimperung gleichmäßig. Die kontraktilen Vakuolen sind in einer Reihe angeordnet. Kein Befestigungsapparat.

Um alle parasitischen Infusorien im Darme der Regenwürmer, mit denen ich arbeitete, zu erwähnen, muß noch *Plagiotoma lumbrixi* genannt werden, ein Infusorium, welches nicht mehr zur Gruppe der Astomata gehört und einen komplizierten Mundapparat besitzt. Dieses Infusorium ist $130\ \mu$ lang und $60\ \mu$ breit, von unregelmäßiger Körperform: die eine Seite ist konvex, die andere, an welcher die Mundöffnung liegt, ist abgeflacht. Die Bewimperung ist ungleichmäßig, die um die Mundöffnung liegenden Wimpern sind stärker. Die Mundöffnung befindet sich an der vorderen Körperseite und führt in einen trichterförmigen Pharynx, der mit Membranellen ausgelegt ist. Am Rande des Pharynx liegt eine große kontraktile Vakuole.

Der Macronucleus ist von sehr eigenartiger Struktur, die an einen Weintraubenhaufen erinnert.

2. Ökologie.

Was die Verteilung der genannten Infusorien im Darmkanal des Wurmes anbetrifft, so fällt eine ziemlich streng durchgeführte Lokalisation derselben in gesonderten Abschnitten des Darms auf. Die Vertreter der Gruppe Astomata werden nur im obersten Abschnitte des Darms angetroffen, während sich *Plagiotoma lumbrixi* ausschließlich im untersten Abschnitte aufhält.

Die einschlägigen Literaturangaben weisen ebenfalls auf eine derartige Verteilung der Parasiten hin. So erwähnt PERZEWA, daß *Plagiotoma lumbrixi* sich bei dem Wurm nur im unteren Teile des Darms, also in den hinteren 15—20 Segmenten vorfindet, nie aber in seinem vorderen Abschnitte, wo sich dagegen nur Vertreter der Astomata aufhalten.

CÉPÈDE weist ebenfalls auf das Vorhandensein der genannten Arten im vorderen Teile des Darms hin.

Eine Erklärung dieser interessanten Tatsache gibt die einschlägige Literatur nicht.

Ich versuchte an diese Frage mit Hilfe einer Analyse der aktiven Reaktion des Darminhalts der Würmer in den verschiedenen Darm-

abschnitten, sowohl bei Anwesenheit, wie bei Fehlen von Parasiten, heranzutreten. Bei dieser Untersuchung ergaben sich nur sehr geringe Schwankungen der Reaktion, so daß es sich nicht mit Sicherheit sagen läßt, ob die Verteilung der Infusorien mit der H-Konzentration in ursächlicher Beziehung steht.

Bei Anwesenheit von Parasiten im oberen, wie im unteren Abschnitt des Darmes ist die Reaktion um 0,2—0,3 alkalischer, als ohne sie; die Reaktion des oberen Darmabschnittes ist ebenfalls um 0,3—0,4 alkalischer als die unteren.

Diese Tatsache der Verteilung der Infusorien auf die Darmabschnitte des Wurmes verdient ausführlicher bearbeitet zu werden, in der vorliegenden Untersuchung habe ich mich aber nicht speziell mit ihr beschäftigt.

Die Würmer, aus deren Darminhalt ich das Material für meine Arbeit entnahm, wurden im Frühling, im Sommer und im Herbst untersucht. In den beiden ersten Jahreszeiten fanden sich im Darminhalt sehr große Mengen von Parasiten und es waren ca. 80 bis 90 Proz. der Würmer befallen, während im Herbst sehr viel weniger Parasiten vorhanden waren und der Prozentsatz der Infektion betrug 30—40 Proz. Die Menge der Parasiten, die sich in jedem einzelnen Individuum vorfinden, wechselt in recht weiten Grenzen und hängt, soviel ich feststellen konnte, von dem mehr oder weniger guten Zustande des Wirtes ab. Um die mögliche Wirkung der Parasiten auf dem Wirtsorganismus zu berücksichtigen, würde stets auf dem Zustand der Gewebe Achtung gegeben. Ferner wurden Versuche angestellt, wobei die Lebensbedingungen der Würmer geändert wurden. Wenn die letzteren 1—2 Wochen bei Zimmertemperatur in einem Kasten mit feuchter Erde gehalten wurden, wurden sie schlaff und dünn, die Menge der Parasiten in ihrem Darminhalt nahm entsprechend ab und ging bei den absterbenden Würmern vollständig verloren. Von Interesse ist, daß die Würmer ihr gesundes Aussehen wiedererlangten, wenn sie künstlich gefüttert wurden (es wurden in die Erde Stückchen rohen Fleisches gelegt); die Menge der Parasiten blieb aber ebenso gering.

Andere Versuche, bei denen die Würmer verschiedenen Temperatureinflüssen unterworfen wurden, ergaben, daß für die Lebensfähigkeit der Würmer, und den maximalen Gehalt an Parasiten in ihrem Darm niedrige Temperatur, Feuchtigkeit und Ausschluß des Tageslichts am günstigsten sind, d. h. eben diejenigen Bedingungen, die ihren normalen Lebensbedingungen im Erdboden nahe kommen.

Die Beobachtungen an einer jungen Generation von Würmern, beginnend mit den frühesten Entwicklungsstadien zeigten, daß das Auftreten der Parasiten erst in erwachsenem Zustande erfolgt; im Darme der jungen Würmer ließen sich keinerlei Parasiten nachweisen. Ich widmete diesen Beobachtungen große Sorgfalt, untersuchte mehrfach Würmer in den verschiedensten Entwicklungsstadien und kam stets zum gleichen Resultat.

Bei einem herabgesetzten Gesundheitszustande der Würmer und einer entsprechend verminderter Parasitenzahl suchte ich besonders Cystenbildungen nachzuweisen, doch fand ich weder unter natürlichen, noch unter veränderten Lebensbedingungen der Würmer Cysten in ihrem Darminhalt. Auch wenn die Infusorien selbst in veränderte Verhältnisse gebracht wurden, wie bei der Kultur derselben (worauf ich unten noch zurückkomme), kam es zu keiner Cystenbildung.

3. Morphologie.

A. Allgemeines Aussehen. (Fig. 1.)

Wie ich bereits erwähnte, besitzt *Anoplophrya* sp. eine gleichmäßig ovale Körperform und ist von einer deutlichen Pellicula umschlossen.

B. Bewimperung.

Die Bewimperung ist völlig gleichmäßig, nirgends sieht man Büschel von längeren oder dichter stehenden Wimpern.

Dadurch, daß die Wimpern in Reihen geordnet sind, erscheint die Oberfläche der Infusorien parallel gestreift. Bei Verlangsamung ihrer Bewegungen infolge der abnormen Lebensbedingungen (bei Beobachtung in physiologischer Kochsalzlösung *in vivo*) sind die Reihen der Vibrationswellen, die sich von einem Körperende zum anderen fortpflanzen, sehr deutlich zu sehen.

FAURE-FREMIET (1907) verglich in bezug auf *Anoplophrya striata* DUJARDIN die Vibration des Wimperapparates der endoparasitischen Infusorien mit der Vibration des Wimperepithels in den Zellen der Metazoa, die in ebensolchen metachronen Wellen verläuft.

C. Die kontraktilen Vakuolen.

Längs dem einen Rande des Körpers liegt eine Reihe von 3—5 kontraktilen Vakuolen von verschiedener Größe und Form, was natürlich von ihrem systolischen oder diastolischen Zustande im Augenblick der Fixierung abhängt. Bei vitaler Beobachtung sind

die kontraktile Vakuolen, die sich mit Neutralrot gut färben, sehr deutlich zu sehen, doch gelang es mir nicht, den ganzen Pulsationsprozeß von Anfang bis zum Ende zu verfolgen, da er sich bei parasitären Formen sehr langsam vollzieht und außerdem bei Störung der normalen Lebensbedingungen die Funktion der Vakuolen geschädigt ist.

An fixierten Präparaten sieht man daher je nach dem Momente der Pulsation oder der Ruhe verschiedene Formen und Größen der Vakuolen. Um die chemische Zusammensetzung der Vakuolenwand festzustellen, bediente ich mich der Osmiumimprägnierung nach KOLAČEV und erhielt dabei eine deutliche Schwärzung, was auf das Vorhandensein von lipoiden Substanzen in den Wänden hinweist.

Hervorzuheben ist, daß der Grad der Schwärzung und die Form der Vakuolen bei demselben Individuum gewisse Unterschiede aufweisen, was darauf hindeutet, daß sich die Pulsation nicht in allen Vakuolen gleichzeitig vollzieht. Zuweilen wird eine derselben besonders stark imprägniert, so daß ein fast ganz schwarzes Gebilde mit einem sehr schmalen Lumen zu sehen ist, was augenscheinlich dem Momente der äußersten Systole entspricht. Die vollkommene Diastole kommt durch eine gleichmäßige Ringform zum Ausdruck, während sich die Vakuolen mit ungleichmäßig gebogenen Rändern oder von Sichelform in den Übergangsstadien zwischen beiden befinden (Fig. 6).

Ähnliche Formen der kontraktile Vakuolen bei Anwendung der Osmiumimprägnierung hat NASSONOV bei der Untersuchung einiger anderer Infusorien, wie *Campanella umbellaris*, *Lionotus folium*, *Nassula lateralia* und auch einiger Vertreter der Flagellata beobachtet.

NASSONOV kommt auf Grund seines Studiums der kontraktile Vakuolen einer ganzen Reihe von Protozoen zum Schlusse, daß sie dem GOLGI'schen Apparate in den Zellen der Metazoen, sowohl morphologisch wie physiologisch homolog sind und den exkretorischen Apparat der Protozoen darstellen.

Dieser Ansicht liegen die analogen Resultate der Osmiumimprägnierung, die in den Wänden dieser wie jener Gebilde eine osmiophile lipoide Substanz aufdeckte, wie auch ihre gleichartige Funktion, d. h. Sekretion mit nachfolgender Exkretion, zugrunde. Bei einer Reihe von Protozoen hat NASSONOV eine Stufenfolge von immer komplizierteren Strukturen des exkretorischen Apparates festgestellt, angefangen von der elementaren Bläschenform, wie bei den Infusorien *Nassula* und *Lionotus*, bis zu dem komplizierten System, wie bei *Paramecium caudatum*. Bezüglich des GOLGI'schen Appa-

rates in den Gewebszellen verschiedener Vertreter der Metazoen weist NASSONOV darauf hin, daß derselbe bei diesen letzteren ebenfalls allmählich immer komplizierter wird.

In den Geschlechtszellen und zum Teil in den somatischen Zellen der niederen Tiere (Crustacea und Insekta) hat dieser Apparat noch die Form kleiner Ringe und erst in den somatischen Zellen der höher organisierten Tiere nimmt er Netzform an. Folglich könnte die Form der kontraktilen Vakuolen bei den Protozoen, d. h. die eines Bläschens, die primitivste Form des GOLGI'schen Apparates darstellen. Die sich mit Osmium imprägnierende Wand spielt die Rolle der Membran, welche den Inhalt des exkretorischen Apparates von dem äußeren Medium, dem Plasma, abtrennt.

Der auf den ersten Blick so groß erscheinende Unterschied zwischen den kontraktilen Vakuolen und dem GOLGI'schen Apparate in den Zellen der Metazoen verwischt sich also, wenn man den Prozeß der allmählichen Vervollkommenung dieser Gebilde in Betracht zieht.

D. Das Protoplasma.

Das Protoplasma stellt in vivo eine stark lichtbrechende, körnige Masse dar. Auf den fixierten Präparaten zeigt die Struktur desselben, je nach dem angewandten Fixiermittel diesen oder jenen Charakter. Wird mit heißer SCHAUDINN'scher Flüssigkeit fixiert, so erhält man das Bild einer körnigen, leicht vakuolisierten Struktur.

E. Der Macronucleus.

Wie ich bereits erwähnte, weist der Macronucleus die für die Familie der *Anoplophryidae* typische bandartige Form auf, die bei den in Rede stehenden Infusorien durch baumartige, gelappte Verzweigungen, die einen ungleichmäßig gezahnten Rand des Kernes ergeben, kompliziert wird. Die Größe dieser Verzweigungen ist sehr verschieden, man trifft Exemplare mit fast völlig glatten Konturen des Kernes, andere mit sehr starker Zähnelung, wobei von diesen Zähnen ausgehend sich lange fadenförmige Fortsätze in das Plasma hineinziehen. In vivo erscheint der Kern als lichtbrechende homogene Masse. Das Studium des Kernes an fixierten Präparaten wurde in toto vorgenommen, da seine innere Struktur dabei genügend deutlich sichtbar war. Es wurde auf verschiedene Weise fixiert, meist aber mit SCHAUDINN'scher Flüssigkeit, die gute Resultate gab.

Der Kern färbt sich gut mit allen Kernfarben, seine innere Struktur erscheint als kleinkörnige Grundmasse mit eingestreuten

Granulis von verschiedener Größe, die sich mit Eisenhämatoxylin sehr intensiv färben und die Farbe gut behalten. Das gleiche Bild sieht man auch bei Anwendung anderer Färbemethoden.

Ich habe folgende Färbungen angewandt: Neutralrot-Lichtgrün nach TWORT, Azur-Eosin nach MAXIMOV, Methylenblau nach MANSON.

Um festzustellen, welche Teile des Kernes aus Chromatin bestehen, mit anderen Worten, um das Vorhandensein von Thymonucleinsäure nachzuweisen, benutzte ich die Reaktion nach FEULGEN. REICHENOW hat diese Reaktion an den Kernen einer Reihe von Protozoen, an zahlreichen Infusorien, wie *Vorticella*, *Balantidium*, *Nyctotherus*, *Lionotus* u. a. mit gut ausgesprochenen positiven Resultaten angewandt, da die Macronuclei der Infusorien infolge ihres Chromatinreichtums in dieser Beziehung ein dankbares Objekt darstellen. Mit Hilfe der FEULGEN'schen Reaktion erzielte ich an der Grundsubstanz des Kernes ein positives, an den Granulis ein negatives Resultat, was mit den Literaturangaben über Kerne von analoger Struktur übereinstimmt (REICHENOW, ŽIROVEC, ZINGER).

Über die Natur der Granulis kann man auf Grund des negativen Ausfalls der FEULGEN'schen Reaktion nur sagen, daß sie kein Chromatin enthalten und wahrscheinlich aus Plastin bestehen.

Dieses wäre in großen Zügen die normale Struktur des Kernes.

Es ist jedoch am Platze, hier einige Veränderungen des Kernes, welche mit zwei Gebilden, die in Beziehung zu dem Kerne stehen, zusammenhängen und ihn so oder anders beeinflussen, zu erwähnen.

Die einen Gebilde (Fig. 3) sind Klümpchen von unregelmäßiger Form, die zuweilen an einem Ende des Kernes angetroffen werden und sich sehr intensiv mit den Kernfarben färben, während der übrige Kern sich viel schwächer färbt und eine etwas veränderte Struktur, vom Charakter des degenerativen Zerfalls aufweist. Dieser Befund deutete auf irgendwelche Beziehungen zum Kerne hin, über welche die gewöhnlichen Kernfarben keinen Aufschluß geben, so daß sich auf diese Weise nichts darüber in Erfahrung bringen ließ, ob diese Gebilde Chromatin enthalten oder nicht. Ich beschloß daher ihr Verhalten zur FEULGEN'schen Reaktion festzustellen.

Da diese Gebilde nur in wenigen Exemplaren vorhanden waren, benutzte ich, um sicher zu sein, daß ich dieselben antreffen würde, Präparate, die vorher mit Eisenhämatoxylin gefärbt und darauf mit Alaun entfärbt worden waren. Diese Methode des Umfärbens erwies sich als brauchbar und die Reaktion ergab von seiten dieser Gebilde ein positives Resultat, was beweist, daß dieselben Chromatin enthalten. Augenscheinlich stehen die Chromatinkörnchen in irgend-

welchen Beziehungen zu dem Kerne, vielleicht sind sie der Ausdruck eines degenerativen Zustandes desselben, der sich infolge ungünstiger physiologischer Verhältnisse einstellt.

Die zweiten Gebilde, augenscheinlich von gleicher Art, sind abgerundete massive stabförmige Körper etwa $20-22 \mu$ lang, die im Plasma neben dem Kerne liegen oder denselben überschneiden (Fig. 4).

Ebenso wie die beschriebenen Klümpchen färben sich diese stabförmigen Gebilde mit Eisenhämatoxylin sehr intensiv und halten diese Farbe gut zurück. Bei völliger Entfärbung des Kernes behalten diese Körper immer noch ihre Farbe, zeigen aber hierbei eine poröse innere Struktur.

Die FEULGEN'sche Reaktion ergab auch von seiten dieser Gebilde ein positives Resultat, dabei fällt aber auf, daß der Kern in diesen Fällen negativ reagiert, indem er sich gar nicht mit Fuchsin färbt, während das stabförmige Gebilde eine intensive Färbung annimmt. Die Lagerung dieser Gebilde in der Nähe des Kernes und das entgegengesetzte Verhalten beider gegenüber der Färbung lassen auf Beziehungen zwischen beiden schließen, die klarzustellen bisher noch nicht gelang.

In der Literatur haben SCHNEIDER ähnliche massive Einschlüsse im Plasma von *Hoplitophrya* und LEGER und DUBOSCQ im Plasma von *Anoplophrya brasili* beschrieben, ohne ihre Natur und ihre Rolle zu deuten. CÉPÈDE fand ein ähnliches Gebilde bei *Schultzelina mucronata*, nannte es „Chromatinkörper“ und sprach die Ansicht aus, daß sein Vorhandensein in der Zelle ein Anzeichen ihrer degenerativen Veränderung ist und dem Absterben des Tieres vorausgeht. Er meint, daß diese „Chromatinkörper“ sich infolge einer Schädigung des Zellstoffwechsels bilden und eine Anhäufung von Nährstoffen darstellen. Aus diesen Ausführungen geht hervor, daß CÉPÈDE diese massiven Gebilde in keiner Weise mit der Chromatin-substanz in Verbindung bringt. Im Anschluß an die Erörterungen bezüglich dieser Gebilde ist es vielleicht am Platze, die Frage der chromidialen Substanz, als des außerhalb des Kernes gelegenen Chromatins nach der Deutung älterer Autoren zu berühren.

Das Auftauchen des Begriffes der Chromidien ist mit dem Namen HERTWIG's eng verbunden, der eine Schule ins Leben rief, die eine lange Zeit hindurch die Ansicht ihres Begründers über das Vorhandensein karyogener Chromatinsubstanz außerhalb des Kernes teilte. Dabei wurden sowohl die körnig-netzartigen Gebilde bei der *Arcella vulgaris*, wie die großen Körnchen bei *Actinospherium* der

allgemeinen Gruppe der Chromidien zugezählt, d. h. es kam zu einer Vermischung des chondriomalen Apparats mit den chromidialen Gebilden und wahrscheinlich mit vielen anderen cytoplasmatischen Einschlüssen. Die morphologischen Unterschiede dieser Gebilde wurden von HERTWIG als verschiedene Stadien des gleichen Prozesses und als Austritt der Kernmasse in das Plasma entweder in Form von mehr oder weniger kompakten Gebilden oder in Form einer diffusen Granulation gedeutet. Auf Grund dessen, daß von vielen Autoren, z. B. von GOLDSCHMIDT, an *Arcella vulgaris* die Bildung eines Sekundärkernes aus den Chromidien beobachtet worden war, stellte SCHAUDINN seine Theorie von der „Duplizität der Kernsubstanz“ auf, wobei er die Chromidien, das Plasmachromatin, als „generatives Chromatin“, das Chromatin des primären Kernes aber als „trophisches“ ansieht, welches nur mit vegetativen Prozessen in Verbindung steht. Diese Duplizität des Chromatins diente auch als Erklärung für das Vorhandensein von zwei Kernen entsprechend der Trennung ihrer Funktionen bei Infusorien. Da jedoch nicht immer die Bildung eines sekundären Kernes aus Chromidien beobachtet werden konnte, schrieben einige Autoren den letzteren eine gemischte Rolle zu, woraus sich dann die Einteilung in das generative „Idiochromatin“ und das trophische „Somatochromatin“ und eine gewisse Synthese dieser beiden Begriffe, d. h. der Chromatinsubstanz im allgemeinen, die diese beiden Funktionen vereinigt, ergab.

Die Anhäufung von Tatsachenmaterial förderte die Widersprüche und den gekünstelten Aufbau dieser Theorien zutage und eine Reihe von Arbeiten widerlegte die HERTWIG'sche Theorie, welche die chromidialen Gebilde mit karyogenen Prozessen in Verbindung brachte. Gegenwärtig gilt als feststehend (z. B. von RUMJANCEV für *Diffugia pyriformis* nachgewiesen), daß die chromidialen Gebilde ihrer chemischen Zusammensetzung nach komplizierte Eiweiß-Fett-Verbindungen darstellen, in der Zelle die Rolle eines Vorrats von Nährstoffen spielen und jedenfalls in gar keinem Zusammenhange mit der Chromatinsubstanz des Kernes stehen.

Es ist klar, daß die Schule HERTWIG's infolge einer ungenügenden differenzierenden Technik unter dem Namen „Chromidien“ künstlich die verschiedensten cytoplasmatischen Einschlüsse, die sich sowohl durch ihre chemische Zusammensetzung, wie durch ihre Funktionen voneinander unterschieden, vereinigte.

Ich komme nun wieder auf die massiven stabförmigen Einschlüsse im Plasma der von mir untersuchten Infusorien zurück, von denen ich nachweisen konnte, daß sie aus Chromatin bestehen, und

nehme an, daß sie zu den im Kerne vor sich gehenden degenerativen Veränderungen zu rechnen sind und nichts mit der normalen Lebensfähigkeit des Organismus zu tun haben, doch läßt sich dieses vorläufig noch nicht mit Sicherheit behaupten.

Schließlich ist vom Kerne noch zu sagen, daß seine Teilung durch einfache Einschnürung in zwei Teile erfolgt, nachdem der mitotische Prozeß im Micronucleus abgeschlossen ist. Dabei lassen sich innerhalb des Kernes keinerlei Veränderungen der inneren Struktur beobachten.

F. Der Micronucleus. (Fig. 5.)

Der Micronucleus läßt sich trotz seiner geringen Größe stets leicht auffinden, da er exzentrisch an einem Rande des Körpers liegt.

Im Ruhezustand stellt er ein kleines Klümpchen von körniger Struktur und unbestimmter Form dar. Es gelang mir, fast alle Stadien des mitotischen Prozesses, den der Micronucleus vor der Teilung der Zelle durchmacht, zu verfolgen.

Im frühesten Stadium dieses Prozesses sammelt sich das Chromatin an der Peripherie und bildet eine Art massiven ungleichmäßigen Ringes. Daß diese Verdickung an der Peripherie durch das Chromatin verursacht wird, bestätigte die FEULGEN'sche Reaktion.

Die nächste Phase besteht in der Bildung der Äquatorialplatte, die anfangs eine reifenartige Masse bildet und sich darauf in zwei gut sichtbare Chromosomen teilt. Diese zwei Chromosomen werden aufgespalten und es kommt zur Bildung der endgültigen Zahl von vier Chromosomen. Auf den Präparaten trifft man am häufigsten die Phase, wo die Chromosomen an die Pole herantreten. Nicht selten sieht man auch das Stadium, in welchem die Spindel zerreißt und der Micronucleus die Form eines Dreiecks oder eines kurzen Sektors annimmt.

Somit sind alle beobachteten Figuren der Mitose des Micronucleus erwähnt.

Die Teilung des letzteren ist früher beendigt, als diejenige des ganzen Infusorienkörpers. Wenn die Teilungsfurche des Infusoriums erst anfängt sich zu vertiefen, kommt es im Micronucleus bereits zur Chromosomenbildung und wenn die Teilungsfigur des Infusoriums ihren Höhepunkt erreicht hat, liegt schon an jedem ihrer Enden ein Micronucleus in Ruhezustand.

G. Die Teilung der Infusorien. (Fig. 2.)

Die Infusorien teilen sich gewöhnlich durch Querdurchschnürung. Zum Beginn des Teilungsprozesses bilden sich an beiden Seiten in der Mitte der äußeren Körperränder, einander gegenüber zwei Furchen, die sich allmählich vertiefen, bis sie das Infusorium in zwei selbständige Organismen trennen.

Eine geschlechtliche Vermehrung konnte ich bei den in Rede stehenden Infusorien nicht nachweisen. Weder unter natürlichen, noch unter veränderten Lebensbedingungen habe ich Konjuganten angetroffen. Es ist möglich, daß bei dieser Art der Infusorien eine Konjugation überhaupt nicht vorkommt.

H. Die cytoplasmatischen Einschlüsse.

Die Analyse der plasmatischen Einschlüsse wurde mit Hilfe der spezifischen Methoden zur Feststellung der wichtigsten Bestandteile des Zellstoffwechsels, der Kohlehydrate, des neutralen Fettes und der Lipoide, vorgenommen.

Diese cytoplasmatische Analyse der parasitischen Infusorien aus der Gruppe der Astomata ist von besonderem Interesse, da bisher keinerlei diesbezügliche Angaben vorhanden waren.

a) Kohlehydrate.

Kohlehydrate wurden in den meisten Infusorien, den frei lebenden, wie den Parasiten, entweder in Form von reinem Glykogen oder einer Abart desselben, des sog. Paraglykogens gefunden. BÜTSCHLI wies an Gregarinen nach, daß die Kohlehydrateinschlüsse in ihrem Plasma nicht aus reinem Glykogen, sondern aus Paraglykogen bestehen. Er spricht die Annahme aus, daß auch bei den meisten Infusorien die Kohlehydrateinschlüsse vom Typus des Paraglykogens sind.

BOJEVA-PETRUŠEVSKAJA weist in ihrer Arbeit über *Balantidium elongatum* auf eine Reihe von Reaktionen hin, mit deren Hilfe das reine Glykogen festgestellt und von Paraglykogen differenziert werden kann. In bezug auf Alkohol, Ptyalin und Diastase verhält sich das Paraglykogen ebenso, wie das reine Glykogen und im Grunde beruht der ganze Unterschied zwischen beiden darauf, daß das reine Glykogen sich in kaltem, wie heißem Wasser vollständig löst, während das Paraglykogen sich in kaltem Wasser gar nicht und in heißem nur schlecht löst.

Um die Kohlehydrateinschlüsse nachzuweisen, wurden die Präparate mit reinem Alkohol fixiert, darauf entweder nach CARNOY mit Ammiakkarmin nach BEST und dann mit Hämalaun oder mit EHRLICH'schem Hämatoxylin gefärbt. Bei einer derartigen Behandlung wurden im Plasma intensiv rote Körnchen von verschiedener Größe und Form sichtbar, deren Anzahl bei den einzelnen Individuen schwankt (Fig. 10). Zur Kontrolle wurden die Präparate der Einwirkung kalten Wassers und der Verdauung mit Ptyalin ausgesetzt. Letzteres wurde während verschieden langer Zeit fortgesetzt, aber schon nach 10—15 Minuten lösten sich die Glykogenkörper vollständig auf. Durch Kochen in Wasser während 2—3 Stunden wurde das Glykogen nicht gelöst, zuweilen wurde seine Menge etwas vermindert, manchmal trat gar keine Veränderung derselben ein.

Auf Grund dieser Widerstandsfähigkeit gegen heißes Wasser ist anzunehmen, daß die im gegebenen Falle gefundenen Kohlehydrateinschlüsse aus Paraglykogen bestanden. Die Bearbeitung nach FISCHER gab keine positiven Resultate, d. h. es konnte keine Färbung irgendwelcher geformter Einschlüsse nachgewiesen werden.

b) Neutrales Fett.

Zur Feststellung von Einschlüssen aus neutralem Fett wurde, wie gewöhnlich, mit Formalin fixiert und mit Sudan III in 70° Alkohol gefärbt.

Das Fett wurde dann in Form kleiner tröpfchenartiger Einschlüsse, die an einem Körperende des Infusoriums lokalisiert waren, sichtbar.

Die Behandlung mit 2 Proz. Osmiumsäure während 2×24 Stunden hatte das Schwärzen von tröpfchenförmigen Gebilden des gleichen Typus, wie bei der Bearbeitung mit Sudan III zur Folge.

Die Färbung der Präparate wurde mit Hämalaun und Hämatoxylin EHRLICH ergänzt.

c) Lipoide.

Die Lipoide wurden mit Hilfe der Methoden von CIACCIO und GOLDMANN¹⁾ nachgewiesen. Bei Anwendung der ersten Methode sah man die lipoiden Einschlüsse in Form von Tröpfchen über das

¹⁾ Fixiert mit 96° Alkohol (4 Teile) + Formalin (1 Teil) 4 Min. lang.

Gefärbt mit 70° Alkohol	100,0	} 10 Min.
Aqua dest.	20,0	
α-Naphthol	1,2	
Sudan III bis zur Sättigung.		
H ₂ O ₂ — 3 Proz.	0,3	

ganze Plasma verstreut, aber in relativ geringer Menge. Sie waren hellgelb bis leuchtend orange gefärbt (Fig. 9).

Bei Anwendung der GOLDMANN'schen Methode waren die Einschlüsse zahlreicher und größer (Fig. 8).

Wenn man die Menge der Einschlüsse aus neutralem Fett mit derjenigen der lipoiden Einschlüsse vergleicht, so sieht man, daß die letzteren an Menge überwiegen. Die Präparate wurden in der gleichen Weise, wie bei der Untersuchung der Fetteinschlüsse nachgefärbiert.

d) Chondriosomen.

In bezug auf die Chondriomelemente habe ich keine positiven Resultate erzielen können. Bei der spezifischen vitalen Färbung mit Janusgrün konnte eine Färbung derartiger Gebilde nicht nachgewiesen werden. Eine Bearbeitung an Schnitten konnte ich nicht durchführen wegen Mangel an Material.

Immerhin nahm ich einige für das Chondriom spezifische Bearbeitungsmethoden in toto vor und zwar fixierte ich nach CHAMPY und färbte dann nach ALTMANN mit Eisenhämatoxylin und nach MILOVIDOV's.

Bei Färbung nach ALTMANN fand ich im Plasma große intensiv rote Gebilde von unregelmäßiger Form und verschiedener Größe, angefangen von kleinen Körnchen bis zu recht großen Klümpchen. Doch kann ich dieselben nicht mit Sicherheit für Chondriomelemente ausgeben (Fig. 11).

4. Kultivierungsversuche.

Zum Schlusse muß ich noch die Versuche, diese Infusorien zu kultivieren, erwähnen, die ich vornahm erstens um ihre Lebensdauer unter künstlich geschaffenen Bedingungen und den Einfluß der letzteren auf die erstere festzustellen; zweitens um den Einfluß der veränderten Lebensbedingungen der Infusorien auf ihre cytoplasmatischen Einschlüsse zu beobachten.

Die Technik der Kultivierung bestand in folgendem: aus dem Darminhalt des Wurmes entnommene Infusorien wurden einzeln oder zu mehreren in kleine Uhrläser gebracht und in eine feuchte Kammer eingebracht. Um die Entnahme der Infusorien aus dem Darminhalt zu ermöglichen, wurde letzterer mit einem Tropfen der Flüssigkeit, die der Kultur als Nährboden dienen sollte, verdünnt. Als Nährboden wurden folgende Lösungen benutzt: 1. physiologische

Kochsalzlösung (für Kaltblüter 0,6 Proz.), 2. physiologische Kochsalzlösung + 0,1 Proz. Glykose, 3. RINGER-LOCKE'sche Lösung für Kaltblüter.

Unter Verwendung dieser Nährböden wurde der Einfluß physikalischer Faktoren, wie Temperatur und Licht auf die Kulturen geprüft. Die Kulturen wurden 1. bei Zimmertemperatur, 2. auf dem Thermostaten, 3. im kalten Raum, 4. bei Tageslicht, 5. im dunklen Raum gehalten. Zimmertemperatur und Tageslicht ergaben eine Lebensdauer von $1\frac{1}{2}$ —2 Tagen, niedrige Temperatur und Dunkelheit verlängerten dieselbe bis auf 3—5 Tage, auf dem Thermostaten gingen die Kulturen nach 2—3 Stunden ein. Diese Fristen erwiesen sich bei Anwendung der genannten Nährböden als sehr beständig, die längste Lebensdauer betrug fünf Tage, gegen Ende dieser Zeit zeigten die Infusorien eine gewisse Depression, die auch durch Erneuerung des Nährbodens nicht behoben werden konnte. Diese Depression äußerte sich darin, daß die Bewegungen der Infusorien schwächer und langsamer wurden und ihr Körper etwas anschwoll. Nachdem ich die stabile Lebensdauer der Infusorien in der Kultur festgestellt hatte, entnahm ich die Tiere meist nach Anlauf der halben Frist, um die entsprechende Bearbeitung zur Feststellung der cytoplasmatischen Einschlüsse vorzunehmen. Ich untersuchte sie mit Hilfe der üblichen Methoden auf Fett- und Glykogeneinschlüsse. In keinem einzigen Falle gelang es mir, in dem Plasma der Kultur entnommenen Infusorien irgendwelche Einschlüsse nachzuweisen, dasselbe erwies sich stets als völlig frei von Einschlüssen und färbte sich bei der ergänzenden Färbung vollkommen gleichmäßig.

Natürlich gestatten diese wenig zahlreichen und durchaus nicht erschöpfenden Versuche noch keine Schlußfolgerungen, sie können nur als Hinweise darauf angesehen werden, daß diese Frage eine weitere Ausarbeitung verdient und daß es nicht genügt, sich auf die Feststellung dieser oder jener Stoffwechselprodukte zu beschränken, sondern daß ihr Entstehen und ihr Verschwinden im Prozesse der Lebenstätigkeit des Organismus unter verschiedenen Verhältnissen verfolgt werden muß.

Schlußfolgerungen.

Systematik.

1. Die *Anoplophrya* sp. ist ein parasitisches Infusorium aus dem Darme des Regenwurms, gehört zur Familie der *Anoplophryidae* aus der Gruppe der Astomata, da es folgende Merkmale aufweist: einen bandförmigen Kern, gleichmäßige Bewimperung, eine Reihe kontraktiler Vakuolen von wechselnder Zahl.

2. Das gemeinsame Merkmal der Vertreter der Familie *Anoplophryidae* ist, daß sie ausschließlich Darmschmarotzer sind.

Lebensbedingungen.

3. Die Infektion der Würmer beträgt im Frühling 80—90 Proz., im Herbst 30—40 Proz., die Menge der Parasiten in jedem einzelnen Individuum steht in direktem Verhältnis zu dem Wohlbefinden der Würmer.

4. Befallen wurden nur erwachsene Würmer, junge Tiere sind vollkommen parasitenfrei.

5. Die *Anoplophrya* sp. und andere Vertreter der Gruppe der Astomata siedeln sich ausschließlich im oberen Abschnitte des Darmes der Regenwürmer an, im Gegensatze zu den nicht zu den Astomata gehörigen Infusorien *Plagiotoma lumbrici*, welche hauptsächlich im unteren Darmabschnitte leben. Die Untersuchung der aktiven Reaktion in den verschiedenen Darmabschnitten ergab so geringe Unterschiede, daß man keinen endgültigen Schluß über den Einfluß dieses Faktors auf die Verteilung der Infusorien ziehen darf.

Morphologie.

6. Die *Anoplophrya* sp. besitzt eine gleichmäßig ovale Körperform; sie ist 80—50 μ lang und 30—20 μ breit. Sie hat eine deutlich ausgesprochene Pellicula, ist gleichmäßig bewimpert, hat in einer Längsreihe 3—5 kontraktile Vakuolen (die Bearbeitung mit Osmiumsäure nach KOLAČEV ergab eine Schwärzung ihrer Wände, was auf das Vorhandensein lipoider Substanz in denselben hindeutet), einen bandförmigen längsgestreckten Macronucleus mit ungleichmäßigen Randkonturen und einen Micronucleus, der in der Mitte der Körperlänge des Infusoriums exzentrisch lokalisiert ist.

7. Mitotische Teilung des Micronucleus.

8. Querteilung des Macronucleus und des ganzen Infusoriums.

9. Cystenbildung konnte nicht nachgewiesen werden.

10. Conjugation wurde nicht beobachtet.

Cytoplasmatische Einschlüsse.

11. Im Plasma wurden zwei Arten von Gebilden gefunden: kleine Klümpchen und massive stabförmige Körper aus Chromatin, die in irgendeinen Zusammenhänge mit dem Kerne stehen und wahrscheinlich der Ausdruck degenerativer Veränderungen des letzteren sind.

12. Kohlehydrateinschlüsse vom Typus des Paraglykogens wurden in Form rundlicher Klümpchen von verschiedener Größe gefunden.

13. Einschlüsse von neutralem Fett in Form kleiner tropfenförmiger Gebilde in geringer Menge.

14. Eine ansehnliche Menge von Lipoiden ist über das ganze Plasma verteilt.

Kultivierung.

15. Unter künstlichen Bedingungen beträgt die Lebensdauer der *Anoplophrya* sp. höchstens fünf Tage.

Tafelerklärung.

Tafel 10—12.

Alle Zeichnungen wurden mit dem Zeichenapparat von ZEISS angefertigt.
Optik: Oc. 10 \times von ZEISS. Immers. 100. Apochr. 1,30. In der Höhe des Tisches.

Tafel 10.

Fig. 1. Gesamtansicht des Infusoriums. Fixiert nach SCHAUDINN, gefärbt mit Eisenhämatoxylin.

Fig. 2. Teilung des Infusoriums. Der Micronucleus hat sich bereits in zwei neue Kerne geteilt. Fixiert nach SCHAUDINN, gefärbt mit Eisenhämatoxylin.

Fig. 3. Klümpchenartige Gebilde von unregelmäßiger Form an einem Ende des Kernes. Fixiert nach SCHAUDINN, gefärbt mit Eisenhämatoxylin + Chromotrop.

Fig. 4. Stabförmiges massives Gebilde neben dem Kerne. Fixiert nach SCHAUDINN, gefärbt mit Eisenhämatoxylin.

Fig. 4a. Idem. Färbung nach FEULGEN.

Fig. 5. Die Stadien der Mitose des Micronucleus a, b, c, d, e, f). Fixiert nach SCHAUDINN, gefärbt mit Eisenhämatoxylin mehr oder weniger Chromotrop oder Lichtgrün.

Tafel 11.

Fig. 6. Kontraktile Vakuolen in verschiedenen Stadien der Pulsation (h, i, j, k). Osmiumprägnierung nach KOLAČEV.

Fig. 7. Einschlüsse von neutralem Fett. Fixiert mit Formalin. Gefärbt mit Sudan III, ergänzende Färbung mit Hämatoxylin EHRLICH.

Fig. 8. Einschlüsse von Lipoiden. Bearbeitet nach GOLDMANN.

Fig. 9. Einschlüsse von Lipoiden. Bearbeitet nach CIACCIO.

Tafel 12.

Fig. 10. Einschlüsse von Paraglykogen. Fixiert nach CARNOY, gefärbt mit Karmin nach BEST, ergänzende Färbung mit Hämalaun.

Fig. 11. Einschlüsse die bei Bearbeitung auf Chondriom gefunden wurden. Fixiert nach CHAMPY, gefärbt mit Fuchsin nach ALTMANN.

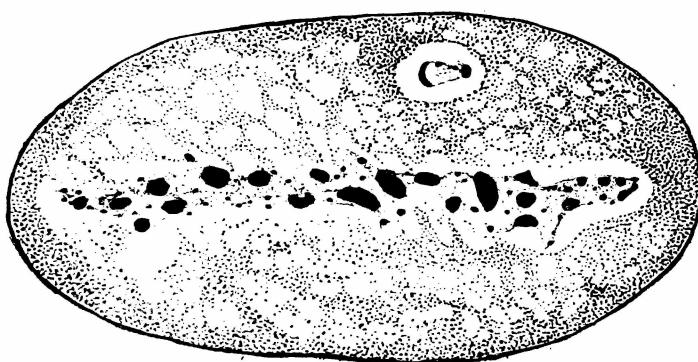


Fig. 1.



Fig. 2.

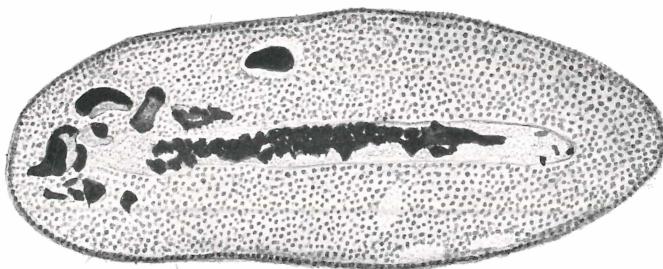


Fig. 3.

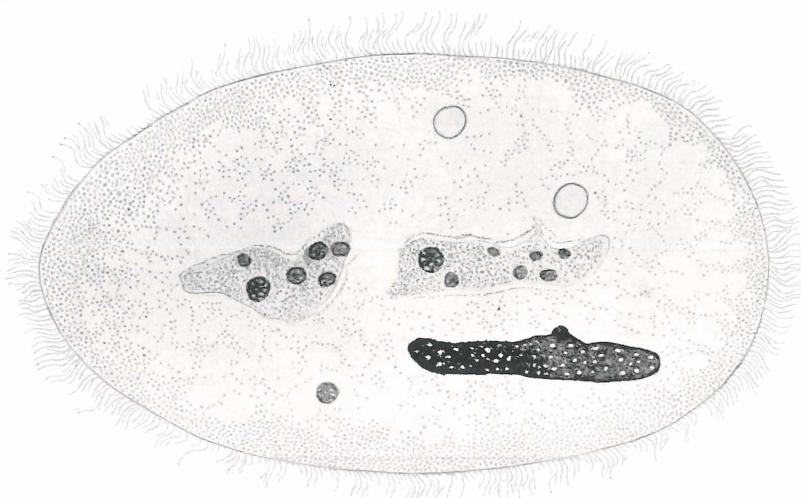


Fig. 4.

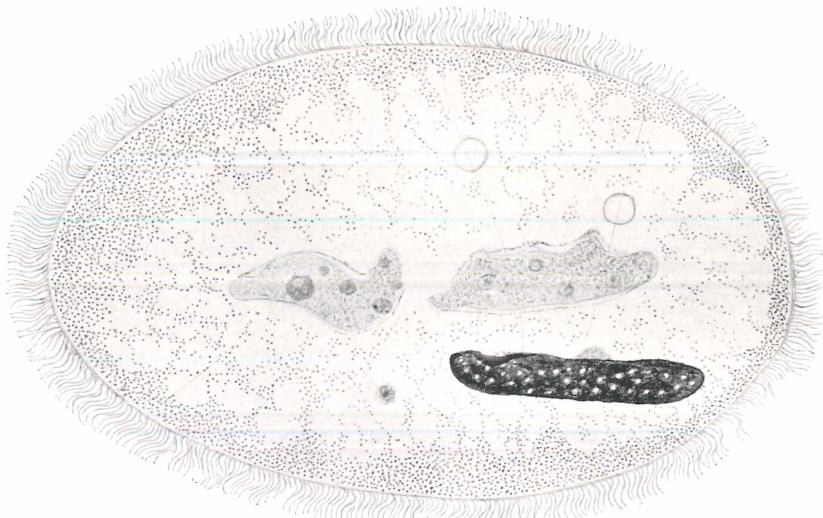


Fig. 4 a.

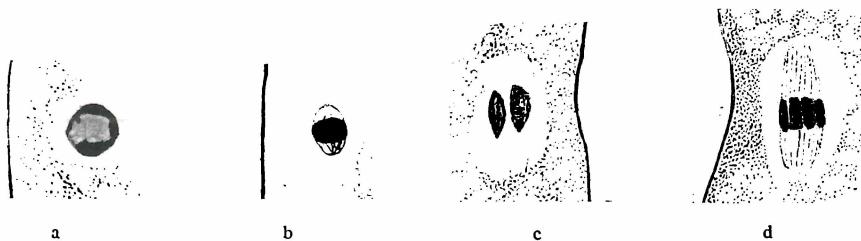
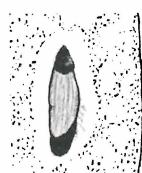


Fig. 5.



e



f



g



h



i



j

Fig. 5.

Fig. 6.

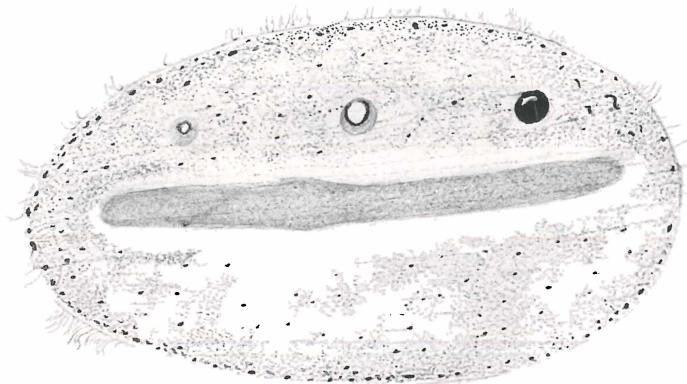


Fig. 6 a.

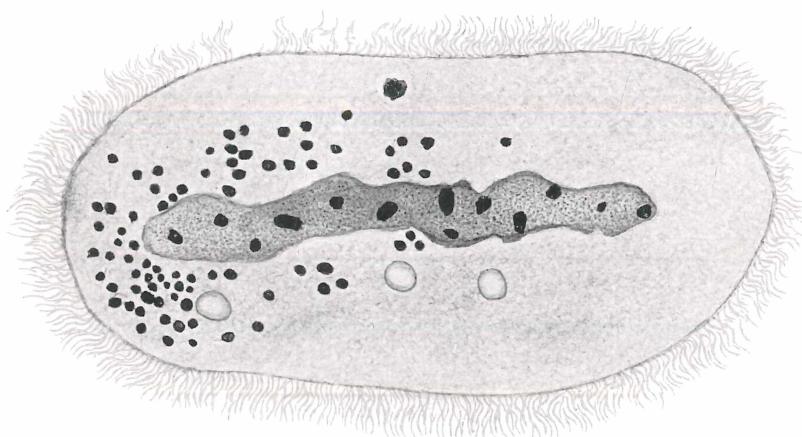


Fig. 7.

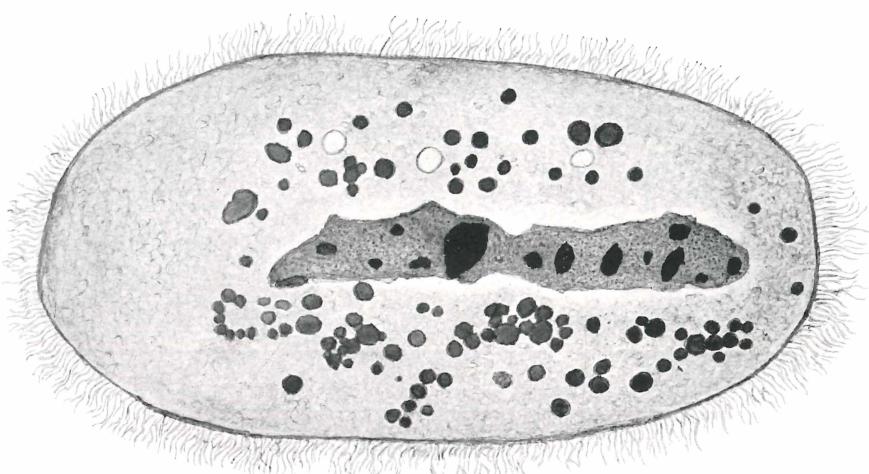


Fig. 8.

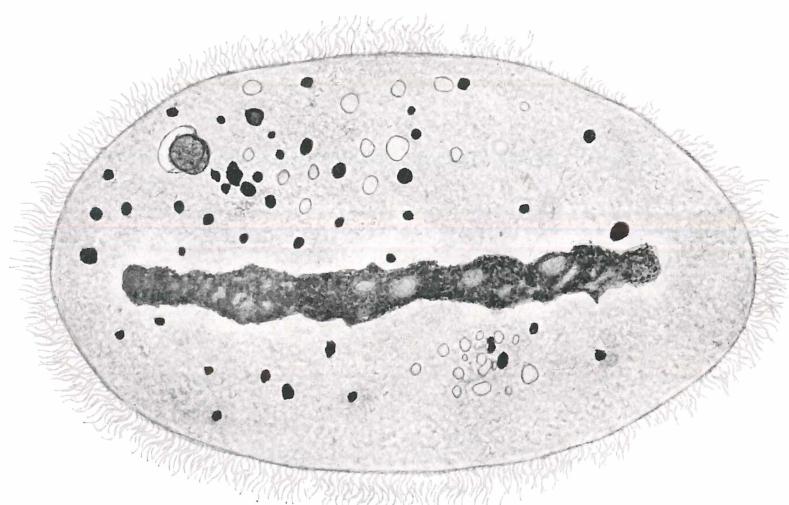


Fig. 9.

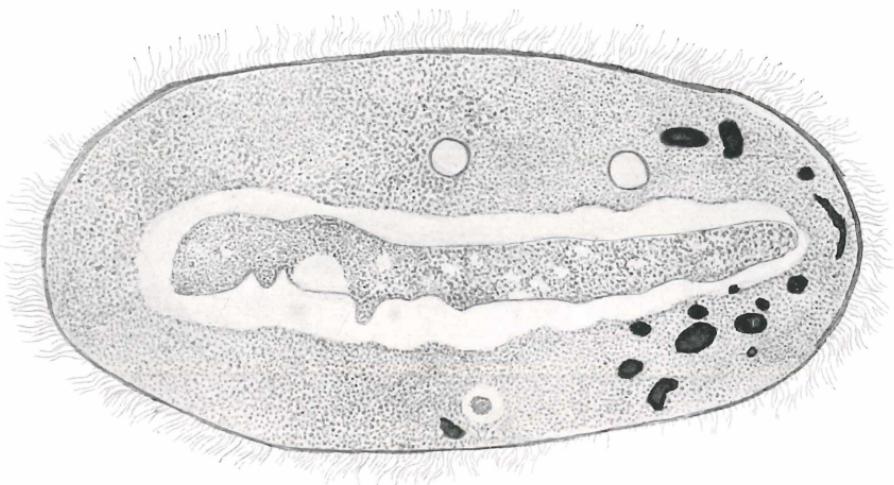


Fig. 10.

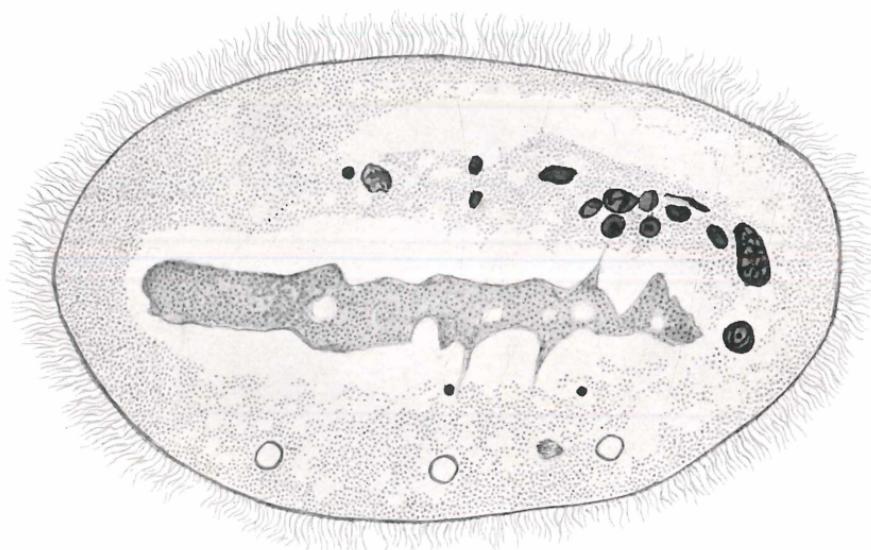


Fig. 11.

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical
Database

Digitale Literatur/Digital Literature

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

Jahr/Year: 1931

Band/Volume: [73_1931](#)

Autor(en)/Author(s): Eksemplarskaja E.V.

Artikel/Article: [Morphologie und Cytologie von Anoplophrya sp.
aus dem Regenwurmdarm. 147-163](#)