

Vitalfärbungen mit Neutralroth an Protozoen.

Von

S. Prowazek,

stud. phil. (Wien).

Mit Tafel IX.

Die Methode in das Plasma lebender Protozoen zum Zwecke besonderer Studien Farbstoffe einzuführen, wandte schon GLEICHEN (1777, 81), in der Folgezeit EHRENBERG (1830) an, indem sie die Thiere ihrer mannigfachen Infusionen mit Karmin und Indigo fütterten; später bedienten sich dieser Art und Weise der Untersuchung in mehr oder weniger modificirter Form viele Forscher. In der neueren Zeit stellte BRANDT¹ Versuche mit Tinktionen von gelösten Farbstoffen, wie Hämatoxylin und Bismarckbraun, an und erzielte mit dem ersteren Mittel, besonders bei Amöben und Heliozoen, blausviolette Kernfärbungen und konnte derart feststellen, dass das Nuclein nicht auf die Kerne allein beschränkt ist, sondern meist noch in Form von kleineren und größeren Körnern vorkommt; mit Bismarckbraun färbten sich bei lebenden Protozoen nur die Fettkörnchen sowie die eigenthümliche celluloseartige Schleims substanz braun; CERTES² gelang es, die Fettkörnchen bei Protozoen mit Cyanine und Bleu de Quinoleine zu tingiren; auch MARIAN PRZESMYCKI³ versuchte Methylenblaufärbungen an Infusorien während des Lebens und fixirte sie sodann zum Zwecke der Untersuchung entweder mit gesättigter Sublimatlösung oder behandelte sie nach zwei besonderen Methoden von ALTMANN; auf diese Weise konnte er Körnchen und

¹ BRANDT, Biologisches Centralblatt. Bd. I. 1881—1882. p. 203.

² CERTES, Comptes rend. Ac. sc. Paris. T. XCII. No. 8. Zool. Anz. 1881. Nr. 81 u. 84.

³ MARIAN PRZESMYCKI, Biolog. Centralbl. Bd. XIV. 1894. p. 621.

Zellgranulationen, die entweder in den Vacuolen auftraten oder ihren Sitz im Entoplasma hatten, feststellen.

In den nachfolgenden Zeilen sollen die Resultate der Vitalfärbung, die mit Neutralroth an Protozoen vorgenommen wurde, mitgetheilt werden.

Zur Untersuchung wurden hauptsächlich Paramaecien (*P. bursaria* und *aurelia*) herangezogen, die direkt auf dem Objektträger unter dem Deckglase mit Wachsfüßchen gezüchtet wurden¹. Der Farbstoff, der intensiv und rasch wirkt, schädigt die Thiere scheinbar nicht, da sie in wässerigen Lösungen desselben doch Theilungen eingingen und dabei keine abnormen Erscheinungen zeigten. Das Neutralroth ist selbst bei den größten Verdünnungen wirksam, und seine Färbekraft geht sogar so weit, dass die Instrumente, mit denen man eben arbeitete, durch längere Zeit gleichsam mit ihm »infectirt« erscheinen.

Setzt man zu einer derartigen Objektträgerkultur von *Paramaecium* einen kleinen Tropfen sehr schwacher Neutralrothlösung hinzu, so tritt nach kurzer Zeit am äußeren Rande der sich eben bildenden Nahrungsvacuole des *Paramaeciums* eine schwach röthlich gefärbte, zarte Zone auf, die aus sehr feinen Körnchen zu bestehen scheint. Nach einiger Zeit werden diese Körnchen immer deutlicher, bis sie bestimmte Umrisse und eine bestimmte Farbnuance erlangt haben; sie sind dann schwach lichtbrechend, doch kommen vielfach neben ihnen größere fettähnliche, lichtbrechende, runde dunkle Körnchen vor, die bei hoher Einstellung des Mikroskops heller roth erscheinen und den Farbstoff ziemlich stark speichern. Die sich ablösende Nahrungsvacuole führt diese Körnchen an ihrer Peripherie theilweise mit sich fort, theilweise werden aber viele durch die auftretenden Strömungen sowie durch die zwei- bis dreimalige Rotation der Nahrungsvacuole abgelöst und strömen längs des Bewegungschattens der früheren Vacuole gegen die sich von Neuem bildende Nahrungsvacuole zurück.

Bekanntlich findet im Zelleib des *Paramaecium* sowie vieler Ciliaten eine Protoplasmaströmung statt, die, wie schon früher beobachtet wurde (an *Paramaecium bursaria* von Focke 1836, an *P. aurelia* v. dems. 1842), auf der rechten Körperseite nach rückwärts verläuft, um auf der linken ihren Verlauf nach vorn zu nehmen; diese wird

¹ Die Ciliaten wurden zumeist mit Coccen aus faulenden Substanzen oder Heuinfusionen, die auf einem Agaragarnährboden gezüchtet wurden, in der Weise gefüttert, dass man mit einem hakenförmig gekrümmten Drahte etwas von der Bakterienkultur zum Rande der Objektträgerinfusion hinzusetzte.

nun im nicht unbedeutenden Maße durch die Bewegungen der Körnchen gleichwie die Strömung in der Pflanzenzelle durch die Chlorophyllkörner verdeutlicht. Die Körnchen, die sich besonders am Grunde des Schlundes anhäufen, führen an manchen Stellen lebhaftere BROWN'sche Molekularbewegungen aus und scheinen sich manchmal zu nähern oder zu entfernen¹.

Da Neutralroth in alkalischen Flüssigkeiten gefällt wird, so könnte man leicht zu der Annahme kommen, dass die erwähnten Körnchen nichts Anderes als gefällte Farbstofftheilchen sind; diesbezüglich ist hervorzuheben, dass sie später immer vom Plasma aus gegen die sich bildenden Nahrungsvacuolen herantreten, in bestimmter Menge erscheinen, und sich eine längere Zeit im Körper des Infusors erhalten. Krankhaft aussehende Paramaecien färben sich nicht oder nur schwach diffus; auch verhielten sich bezüglich der Körnchenfärbung ausgehungerte Paramaecien, die wenig Nahrungsbällen sowie »Exkret«-Körnchen enthielten, in verschiedener Weise als angefressene Individuen.

Auf Grund der oben geschilderten Verhältnisse scheinen die Körnchen zur Verdauung und Assimilation in Beziehung zu stehen; nicht unberechtigt wäre vielleicht die Annahme, sie als Träger von »Fermenten« aufzufassen.

Da in Folge der Färbung die Peripherie der Nahrungsvacuole wegen der Körnchenansammlung sich deutlicher vom Entoplasma abhob, war man im Stande die Ablösung der Nahrungsvacuolen leichter zu beobachten. Der Vorgang hat im Allgemeinen, wie auch BÜTSCHLI erwähnt, eine gewisse Ähnlichkeit mit dem, wenn ein Flüssigkeitstropfen aus einem sich verjüngenden Röhrechen sich in

¹ Diese sowie verwandte Erscheinungen könnte man sich in folgender Weise erklären: 1) Die Körnchen werden durch die Zufälligkeiten der aktiven Bewegungen des Inhaltes hervorgerufen; oder 2) die Körnchen ruhen oder bewegen sich langsamer oder umgekehrt, als der Strom, der sie von der Seite trifft, und es entsteht so um diese ein Wirbelsystem, die zwischen ihnen gegen die Symmetrieebene befindlichen Theilchen verharren mehr in der Ruhe und werden einander genähert, wodurch eben wieder nach Ablauf der Welle ein Schein einer »Abstoßung« hervorgerufen wird. Dieser Punkt gilt wohl in unserem Fall. 3) Sind die Körnchen elastisch liquid, so treten je nach der Druckverschiedenheit an ihnen Pulsationen auf, die entgegengesetzt oder gleichgerichtet die erwähnten »Anziehungs- und Abstoßungserscheinungen« bewirken. 4) Das scheinbare Nacheilen, Anziehen und Abstoßen geschieht wohl in der Weise, dass das erste Körnchen dem zweiten einen Druckschutz gegen den Strom bietet, gegen dieses gedrückt, ihm die halbe Bewegungsenergie mittheilt, es derart »abstößt« etc.

eine zähflüssige Substanz ablöst. Das Wasser, in dem Bakterien und andere Protothyten stets in Menge fortgeführt werden, gelangt bei der ziemlich lebhaften Bewegung der undulirenden Membran an der Dorsalseite des Schlundes gegen das das Schlundende begrenzende Entoplasma, mit dem es aber keine Mischung eingeht und sich der Art unter dem Druck des immer nachströmenden Wassers am Schlundende zu einem Tropfen formt, der alsdann langsam bis zu einer bestimmten Größe heranwächst; in diesem werden die Nahrungstheilchen, falls sie klein sind, von den innen entstehenden Strömungen herumgewirbelt. Auch größere Theile, wie Spirillen, Algenfragmente etc. sind stets von dem Tropfen, der in Folge dessen oft eine längliche Gestalt annehmen muss, ja manchmal auch in eine Spitze ausgezogen erscheint, umhüllt. Die Form der Vacuole wird der erwähnten Rotationsströmung des Plasmas angepasst und ist oft derart nach der einen Seite unten mehr ausgebuchtet, an welcher Stelle sich auch mehr Körnchen ansammeln. Ihre Größe ($d = \text{ca. } 0,071 \text{ mm}$) ist unter normalen Verhältnissen fast immer gleich; bemerkenswerth ist es nur, dass die mit Wasser gefüllte Nahrungsvacuole ungefähr dasselbe Wasservolumen wie eine der kontraktilen Vacuolen (Größe $d = \text{ca. } 0,09 \text{ mm}$) fasst; da aber zwei kontraktile Vacuolen vorhanden sind, und diese sich unter den gegebenen Verhältnissen bei einer Temperatur von 16° C. in ungefähr 25 Sek. entleerten, während die einzige Nahrungsvacuole ungefähr in 120—125 Sek. sich ablöste — wobei noch der Umstand in Erwägung zu ziehen ist, dass sie nicht in ihrer Gänze Wasser, sondern auch Nahrungspartikeln enthält — so findet wohl auch durch die Umgrenzung der Nahrungsvacuole unter dem Wasserdruck oder sonst wie ein Diffusionsvorgang statt; zu einer derartigen oder analogen Annahme müsste man wohl auch seine Zuflucht nehmen, sobald die Paramaecien ungünstigen Einflüssen ausgesetzt, keine eigentlichen Nahrungsvacuolen bilden, trotzdem aber in dieser Zeit die kontraktilen Vacuolen entleeren. In dem Moment der Ablösung kontrahirt sich auf Grund eines Reizes entweder in Folge der allgemeinen Eigenschaft der Plasmakontraktilität oder besonderer Vorrichtungen das Schlundende, was man oft aus dessen Gestalt, da schon wieder neues Wasser nachströmt, entnehmen kann, und die Nahrungsvacuole bewegt sich, da auf diese Weise der Zusammenhang mit der Außenwelt unterbrochen wurde und sie durch die Kontraktion — sie ist unten dann meist gleichsam zugeschärft — sowie die Kraft des nachdrängenden Wassers einen Stoß erhielt, nach oben. Die Ab-

lösung der Nahrungsvacuole unterstützt auch die Rotationsströmung im Entoplasma, für die, sobald die Nahrungsvacuole ihre definitive Größe erlangt hatte, von unten her eine genügende Angriffsfläche geboten war. Die abgelöste Nahrungsvacuole bewegt sich unter Rotationen gegen das Körperende, welche Bewegungen sich aus dem excentrischen Stoß ergeben, der einerseits aus der Kraft des nachströmenden Wassers und der der Kontraktion, sowie andererseits der erwähnten Plasmaströmung resultirt. Durch diese Bewegung drückt die neue Vacuole die vor ihr abgelöste Nahrungsvacuole tiefer in den Strom herab, während sie selbst einen geringen Rückstoß von dem Plasma empfing, das sie auf ihrer Bahn vor sich hertrieb, und das an der rascheren äußeren Rotationszone des Entoplasmas sowie dem inneren Theile des »Ektoplasmas« abprallte.

Die Ablösung der Nahrungsvacuole kann nicht allein den entoplasmatischen Strom, wie STEIN meinte, erzeugen, weil dieser theilweise schon bei der Ablösung eine Rolle spielt, sowie von der bewegten Vacuole zuerst durchkreuzt wird; der Process mag in sekundärer Weise erst das Strömen erhöhen. Durch die weiteren Bewegungen der abgelösten Nahrungsvacuolen wird die Vertheilung der Nahrung durch den ganzen Körper befördert, ja es kann auch, sobald der Verdauungsvorgang weiter vorgeschritten und fast alles Wasser aus der Vacuole entfernt worden ist, die Zertheilung und Chymificirung des Nahrungsrestes noch weiter vorgenommen und ausgenutzt werden. Die Nahrungsvacuole ist Anfangs groß, bei mit Neutralroth gefärbten Individuen schwach diffus gefärbt und mit einem Körnchenbesatz, der später verschwindet, versehen; sobald die Nahrungsvacuole mehr gegen die Mitte oder das Ende gelangt ist, vermindert sich schon ihr Wasserinhalt bis auf eine geringe Menge, während der Nahrungsinhalt sich ungefähr in der Mitte der Bahn dunkler färbte, bei welchem Vorgange die Thätigkeit des Großkernes irgendwie eine Rolle spielen dürfte. Der Verdauungsprocess scheint zuerst im Centrum zu beginnen, da die äußere Partie des Nahrungsballens sich meist noch lange erhält, gegen die vielleicht auch durch innere Strömungen und Diffusionen die unverdauten Theile gedrängt oder geführt werden. Während die Nahrungsvacuole im Entoplasma umhergeführt wurde, bildeten sich in ihr, wie W. SCHEWIAKOFF beobachtete, aus phosphorsaurem Kalk die Exkretkörner.

Nach einigen Stunden — oft aber auch schon früher — traten nach der Behandlung mit Neutralroth auf den beiden Enden sowie

in ein bis drei Streifen um die Schlundregion, dunkelroth gefärbte hyaline Tröpfchen auf; Anfangs wäre man geneigt sie als pathologische Bildungen aufzufassen, doch dürften sie wegen ihres bestimmten Vorkommens auf einen geringeren Zusammenhang in der feineren Molekularstruktur der äußeren Schichten des Ektoplasmas an jenen Stellen hindeuten, die vielleicht Orte besonderer Diffusionsvorgänge, an denen gewisse ergastische Gebilde als Ausscheidungen des Protoplasten zum Austritt gelangen, darstellen; bemerkenswerth ist die verschiedene Zeitdauer sowie Unregelmäßigkeit in der Vertheilung der Körnchen. HANS WALLENGREN (Zoolog. Studien, Festschrift für W. LILLJEBORG, Upsala 1897, p. 63) machte mit sehr schwachen Lösungen von Bismarckbraun Versuche an *Pleurocotes Hydractiniae* und fand gleichfalls 1μ große unregelmäßig angeordnete Körner unter oder in der Pellicula, die in sich einen Centralkörper bargen und nicht selten abgelöst von der lebhaften Cilienbewegung weggeschleudert wurden; der genannte Forscher legt ihnen eine exkretorische Bedeutung bei und fasst sie als kleine Exkretvacuolen mit einem central ruhenden Exkretkorn.

Bei *Monas vivipara* kommen auch zahlreiche kleine »Körnchen«, die sich in großer Anzahl in der äußersten Schicht vorfinden, vor; bei *Monas lens* zeichnete seiner Zeit schon PERTY an der Oberfläche der Protozoen kleine (neun) Höcker, die er als Blastien auffasste; auch ich hatte einmal die Gelegenheit einen kleinen Flagellaten, der wahrscheinlich in den Entwicklungscyklus einer *Amoeba radiata* verwandten Form gehörte, zu beobachten, der mehrere hervorragende Tröpfchen an seiner Oberfläche besaß. Bei *Pleuronema chrysalis* erschienen nach der Vitalfärbung zumeist ähnliche, ungefähr in Reihen angeordnete tröpfchenförmige Körner; auch bei dem sonst diffus sich färbenden *Prorodon* konnten derartige dem Ektoplasma angehörende Bildungen beobachtet werden, gleichwie am Peristom von *Epistylis*, nur dass sie hier einer tieferen Schicht zukamen. Neben den genannten Protozoen wurde auch die Vitalfärbung mit Neutralroth an *Trachelius ovum* versucht, bei dem das Entoplasma diffus roth mit einer gelblichen Nuance und die Nahrungsballen dunkelroth sich färbten, wobei der langgestreckte Kern deutlicher wurde. Bei *Bursaria* erschienen besonders die runden und die länglichen scharf kontourirten Körnchen, die hart an der Oberfläche des Körpers lagern, in dunkelrother Farbe. Bei den ciliatenfressenden Heterotrichen, wie z. B. *Stentor coeruleus* und *polymorphus*, wurde keine besondere Färbung, abgesehen von der des Kernes, wahrgenom-

men, höchstens dass sich weiter unverdaute Nahrungspartikel, neben diesen aber auch Körnchen roth färbten. Bestand aber die Nahrung aus einem unverdauten Stentor coeruleus, so färbte sich auch ohne Anwendung des Farbstoffes nach einiger Zeit der Inhalt der Nahrungsvacuole, insbesondere aber die Peristomgegend des Nahrungstieres röthlich; bei der Anwendung von Kalilauge und der darauf folgenden Behandlung mit Säuren nahm gleichfalls von selbst das Pigment des Peristoms bei Stentor coeruleus eine röthliche Farbe an. An dem Stielmuskel von *Carchesium polypinum* färbten sich auch gewisse Körnchen, die schon GREEFF seiner Zeit in seine Zeichnung von dem besagten Thier eintrug, und die in unregelmäßiger Folge in einer Längsreihe dem Muskel folgten, dunkelroth, bei höherer Einstellung erschienen sie heller, stark lichtbrechend.

Das Plasma von *Opalina ranarum* tingirte sich schön rosig roth, wobei sich die Kerne etwas deutlicher abhoben. Schöne Färbungen der doppelten Körnchen erzielte man bei *Actinosphaerium* Eich., wodurch zugleich die Plasmabewegung verdeutlicht wurde, — oft trat aber nach der Anwendung des Farbstoffes der Tod des Organismus ein. Beim Absterben der Protozoen machte sich vielfach eine Entfärbung bemerkbar, die man sich in der Weise erklären könnte, dass entweder die sich färbenden Substanzen heraustraten, oder weitgehenden chemischen Veränderungen unterlagen. — Bei den Metazoen färbten sich besonders Drüsenzellen, wie z. B. beim Vortex, *Ophryotrocha puerilis*, die Anhangsdrüsen der Rotiferen, sowie die obere Partie in den gekörnten Avicularien der *Bugula avicularia* und zwei Arten von Körnchen oder Tröpfchen in den »Zooecien« in einer hellrothen und dunkelrothen Nuance, besonders aber auch kleine Körnchen, die unregelmäßig in der Wandung des oben sich verästelnden räthselhaften »hohlen Astes« eingelagert waren. Auch gewisse kleine Körnchen in den amöboiden Zellen in der Leibeshöhle nahmen einen gelblich rothen Farbenton an, welche Erscheinung mit gewissen alkalischen Reaktionen in Zusammenhang zu bringen wäre.

Die Vitalfärbung mit Neutralroth bringt uns derart nicht bloß gewisse ergastische Strukturen des Protoplasten, sei es, dass sie Einschlüsse oder Ausscheidungen dieses sind, die vielfach mit der Verdauung und Assimilation im engen Zusammenhang stehen, zur Anschauung, sondern es wird auch auf diese Art und Weise die mannigfache Plasmaströmung verdeutlicht, ferner mag sie aber auch, sofern sich das ganze Plasma verfärbt, dazu dienen, das Studium

bezüglich der Permeabilität der äußeren Schichten des lebenden Zellkörpers zu erleichtern; wie MARGHERITA TRAUBE-MENGARINI fand, sollen die Infusorien mit Ausnahme der parasitisch lebenden von einer impermeablen Schicht umgeben sein, so dass allenfalls nur an der Schlundöffnung eine Osmose eintreten kann, es scheint aber doch die Möglichkeit nicht ausgeschlossen zu sein, dass auch eine anderweitige, allerdings nicht so bedeutende Osmose bei einigen Formen vor sich geht, da beispielsweise bei einem Prorodon in kurzer Zeit mit ziemlicher Intensität die Vitalfärbung eintrat, selbst wenn sich keine Nahrungsvacuolen bildeten, und so die eigentliche Diffusionen ermöglichende innere Schlundfläche eine kleinere Wirkungsfläche darbot.

Zum Schlusse erlaube ich mir Herrn Professor Dr. BERTHOLD HATSCHKE und Herrn Privatdocenten Dr. C. J. CORI, die mich bei dieser Arbeit mit wichtigen Rathschlägen unterstützten, meinen wärmsten Dank auszusprechen.

Wien, im Juni 1897.

Erklärung der Abbildungen.

Nv, Nahrungsvacuole; *Cv*, kontraktile Vacuole; *Nb*, Nahrungsballen; *Nucl*, Kern.

Tafel IX.

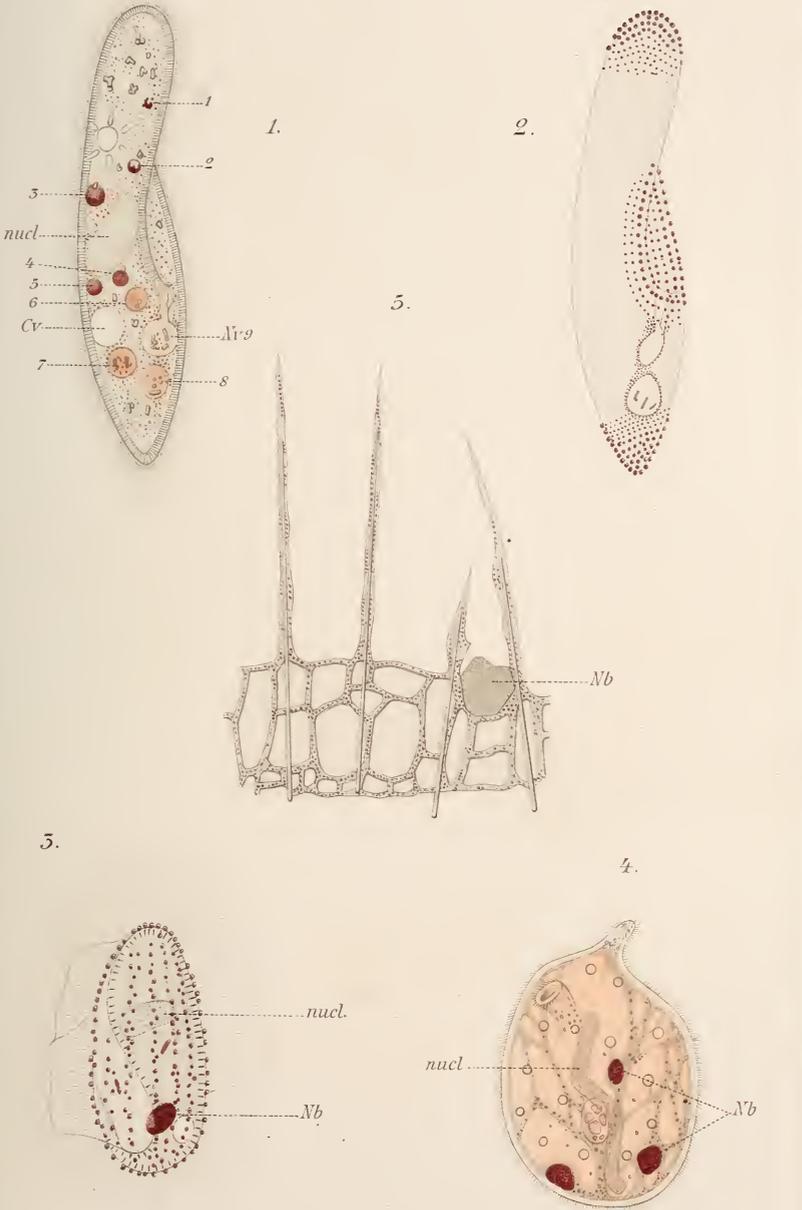
Fig. 1. *Paramecium aurelia*, während des Lebens mit Neutralroth gefärbt, die Zahlen 1—9 bedeuten die Reihenfolge der Nahrungsvacuolen, wobei die mit 1 bezeichnete die älteste, die mit 9 die sich eben bildende ist.

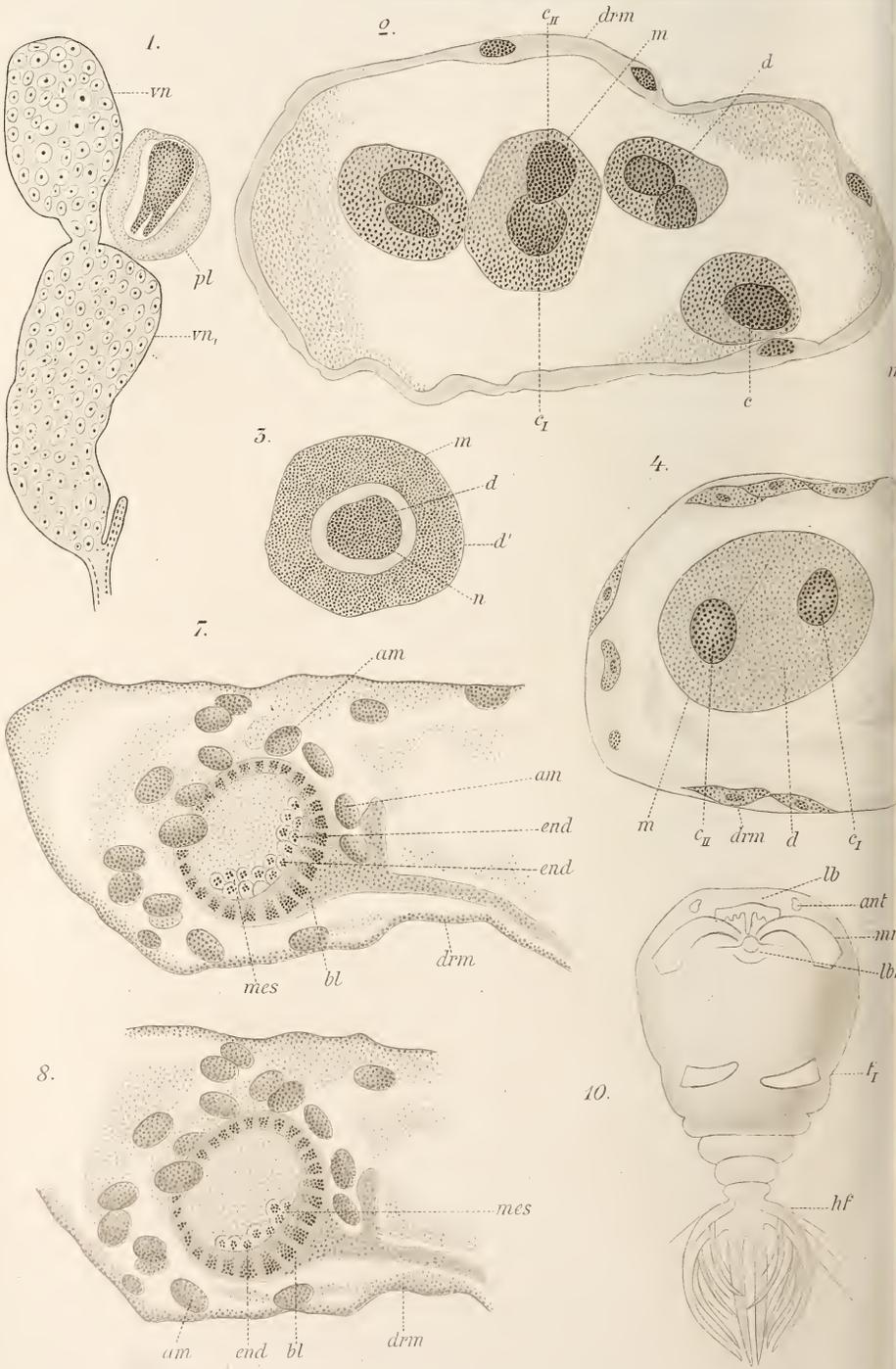
Fig. 2. *Paramecium aurelia*, im Umriss mit hervortretenden »Exkretperlen«.

Fig. 3. *Pleuronema chrysalis*, mit »Exkretperlen«.

Fig. 4. *Trachelius ovum*, mit diffus gefärbtem Plasma.

Fig. 5. Ein Segmenttheil von *Actinosphaerium* Eich. mit roth gefärbten Plasmakörnchen.





ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: [Zeitschrift für wissenschaftliche Zoologie](#)

Jahr/Year: 1897-1898

Band/Volume: [63](#)

Autor(en)/Author(s): Prowazek S.

Artikel/Article: [Vitalfärbungen mit Neutralroth an Protozoen. 187-194](#)