Zeitschrift: Acta Tropica

Herausgeber: Schweizerisches Tropeninstitut (Basel)

Band: 25 (1968)

Heft: 4

Artikel: Elektronenmikroskopische Untersuchungen zum Lebenszyklus von "Trypanosoma cruzi" : unter besonderer Berücksichtigung der Entwicklungsformen im Überträger "Rhodnius prolixus"

Autor: Brack, Christine

Kapitel: III: Ultrastruktur der verschiedenen Entwicklungsformen

DOI: https://doi.org/10.5169/seals-311542

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist die Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften auf E-Periodica. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Zeitschriften und ist nicht verantwortlich für deren Inhalte. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern beziehungsweise den externen Rechteinhabern. Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen sowie auf Social Media-Kanälen oder Webseiten ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Mehr erfahren

Conditions d'utilisation

L'ETH Library est le fournisseur des revues numérisées. Elle ne détient aucun droit d'auteur sur les revues et n'est pas responsable de leur contenu. En règle générale, les droits sont détenus par les éditeurs ou les détenteurs de droits externes. La reproduction d'images dans des publications imprimées ou en ligne ainsi que sur des canaux de médias sociaux ou des sites web n'est autorisée qu'avec l'accord préalable des détenteurs des droits. En savoir plus

Terms of use

The ETH Library is the provider of the digitised journals. It does not own any copyrights to the journals and is not responsible for their content. The rights usually lie with the publishers or the external rights holders. Publishing images in print and online publications, as well as on social media channels or websites, is only permitted with the prior consent of the rights holders. Find out more

Download PDF: 06.01.2026

ETH-Bibliothek Zürich, E-Periodica, https://www.e-periodica.ch

Im Zentrum beider Entwicklungszyklen steht somit die sphaeromastigote Form, die den Weg gefunden hat, sich sowohl im wirbellosen Wirt als auch im Wirbeltierwirt zu entwickeln. Im ersten Zyklus führt sie zur Bildung der ursprünglichen, epimastigoten Insektenflagellaten, im zweiten Zyklus zur Bildung der trypomastigoten Form, welche eine Ausdehnung des Lebensraums auf den warmblütigen Wirt ermöglicht. Die sphaeromastigote Form kann in dieser Funktion verglichen werden mit der resistenten Dauerform (Cyste), die primären Insektendarmflagellaten zur Übertragung diente.

In diesem Zusammenhang sei auf eine Arbeit von PIZZI & CHRISTEN (1950) hingewiesen. Die Autoren haben gezeigt, daß in Kulturen von *T. cruzi,* die bei niederem pH oder bei tiefen Temperaturen (bis 0° C) gezüchtet wurden, «runde Formen» als Überdauerungsstadien der ungünstigen Milieuverhältnisse auftreten können. Wir wissen allerdings nicht, ob dies Degenerationsformen sind, oder ob sie direkt mit den sphaeromastigoten Stadien aus dem Wanzendarm verglichen werden dürfen.

In unseren alten Kulturen treten oft auch abgerundete, atypische Formen auf. Im gefärbten Ausstrichpräparat lassen sich jedoch diese absterbenden, oft stark vakuolisierten Zellen mit gestreckter Geißel deutlich unterscheiden von den sphaeromastigoten Formen, die von der Geißel umwunden sind, sich lebhaft teilen und den Formen im Wanzendarm gleichen.

Wenn wir nun die Eigenschaft der sphaeromastigoten Form, sich als widerstandsfähigstes Stadium an andere Verhältnisse anzupassen, berücksichtigen, so scheint ihre zentrale Stellung in unserem Schema nicht mehr so fragwürdig.

Wir sind uns bewußt, daß auch diese Interpretation der Entwicklungszyklen im Insektendarm noch weitgehend spekulativ ist. Sie soll uns aber als Arbeitshypothese für die nachfolgenden Untersuchungen dienen.

III. Ultrastruktur der verschiedenen Entwicklungsformen

A. Material und Technik

Alle Entwicklungsstadien wurden aus den verschiedenen Darmabschnitten der Raubwanze isoliert und so weit wie möglich getrennt verarbeitet. Dazu wurden die Wanzen an bestimmten Tagen nach der infektiösen Blutmahlzeit seziert und der Inhalt der einzelnen Darmteile in physiologische NaCl-Lösung entleert. Epimastigote Formen wurden am 5.—6. Tag aus dem Mitteldarm isoliert,

trypomastigote Formen vom 10. Tag an aus dem Enddarm. Die sphaeromastigoten Formen wurden aus Mitteldarm und Enddarm gewonnen.

Die Trypanosomensuspension wurde mit Fixierflüssigkeit versetzt und 5—10 Min. bei 1500 rpm zentrifugiert (Anreicherung der Parasiten).

Aus dem Blut von infizierten Mäusen und aus dem Kulturmedium (14tägige Kulturen) wurden die Trypanosomen ebenfalls durch Zentrifugieren angereichert (1500 rpm, 5 Min.).

Zwei verschiedene Fixiermethoden kamen zur Anwendung:

Fixierung I (nach Palade)

OsO_4 1%	(Veronalpuffer pH 7,6)	0—4° C	20—40 Min.

Fixierung II

Glutardialdehyd 3%	(Phosphatpuffer pH 7,2)	0—4° C	60 Min.
OsO_4 2%	(Phosphatpuffer pH 7,2)	0—4° C	30 Min.

Die weitere Verarbeitung der Trypanosomensuspension erfolgte nach der klassischen Methode: Entwässerung in aufsteigender Acetonreihe, Durchdringung und Einbettung in Durcupan ACM (Fluka) oder Epon; Polymerisation der Blöcke bei 60—70° C während 2—4 Tagen. Dünnschnitte wurden mit dem LKB Ultrotome I hergestellt und die Präparate mit Uranylacetat und Bleihydroxid, respektive Bleicitrat nachkontrastiert. Die elektronenmikroskopischen Aufnahmen erfolgten auf dem Zeiß EM 9.

Als Identifikation der Stadien im Dünnschnitt diente die Lagebeziehung Kern-Kinetoplast. Es wurden z. B. nur diejenigen Zellen als trypomastigot bezeichnet, bei welchen eindeutig festzustellen war (evtl. durch eine Schnittserie), daß der Kinetoplast hinter dem Zellkern liegt. Die sphaeromastigoten Formen erkennt man am Verlauf der Geißel und an der Größe des Zelldurchmessers.

B. Feinstruktur der Entwicklungsformen

Die schematische Darstellung (Fig. 2) gibt am Beispiel der epimastigoten Form eine Übersicht über die Organisation in der Flagellatenzelle.

Zellmembran (Pellikula)

Eine Zellmembran («unit membrane») von 100—120 Å Dicke begrenzt den Flagellatenkörper (Abb. 1 b, 3, 32).

An der Austrittstelle der Geißel ist die Zellmembran eingebuchtet.

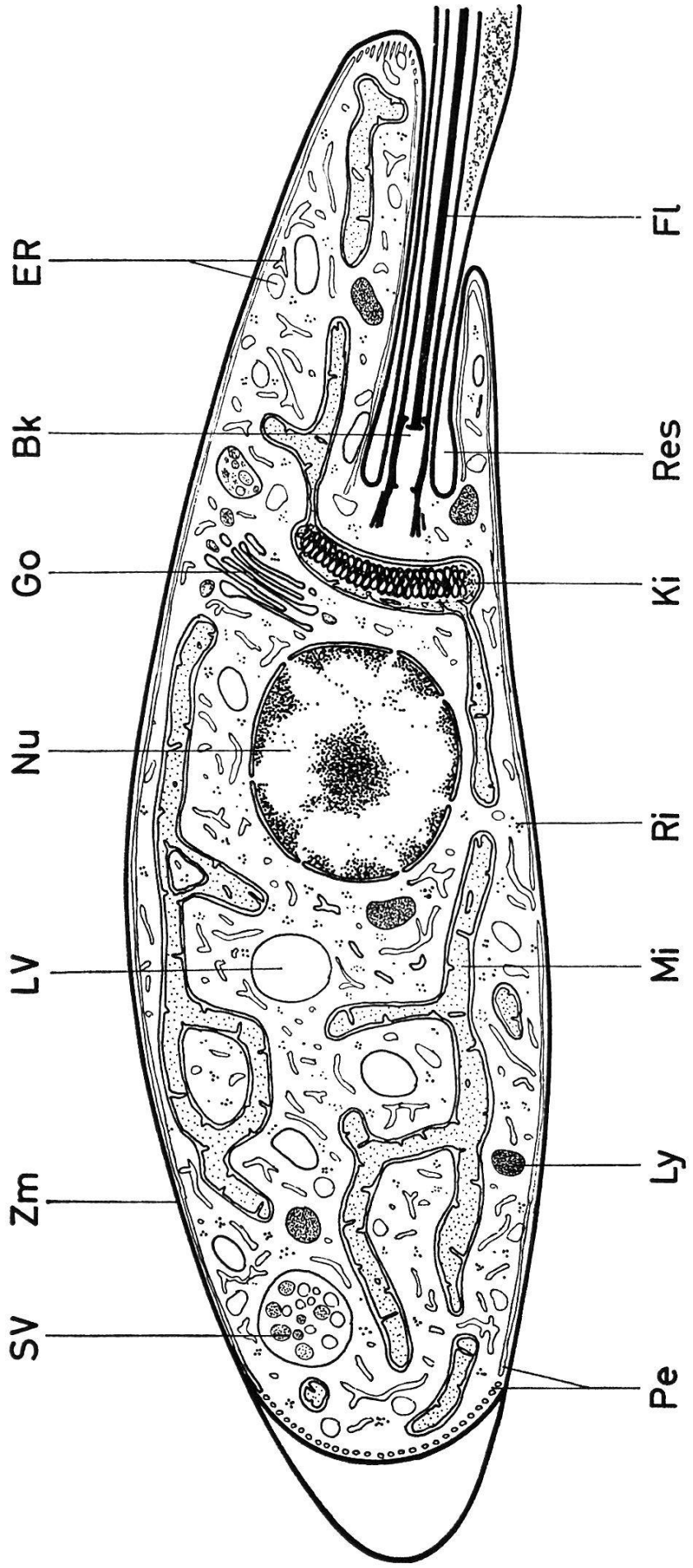

Fig. 2. Längsschnitt durch eine epimastigote Form von **Trypanosoma cruzi.** (Alphabetische Liste der verwendeten Abkürzungen siehe S. 331).

Sie begleitet das Flagellum bis an seine Basis und setzt sich nachher als Geißelhüllmembran fort. Am Grunde der Einstülpung ist diese Geißeltasche erweitert zum sogenannten Reservoir (Abb. 5).

Bei der epimastigoten Form ist die Geißeltasche 0,4—0,8 μ tief. Bei der trypomastigoten Form hingegen verläuft das Flagellum nur ein kurzes Stück innerhalb der Zelle; die Geißeltasche mißt hier 0,2—0,3 μ.

In der Nähe des Reservoirs findet man im Cytoplasma oft verschieden große Bläschen und Vakuolen, welche möglicherweise auf pinocytotische Vorgänge zurückzuführen sind (Abb. 14, 37).

Periplast

Unterhalb der Pellikula befindet sich eine Schicht regelmäßig angeordneter, parallel zur Längsachse verlaufender feiner Tubuli, der sogenannten Periplastfibrillen (Abb. 3, 6, 28). In anderen Arbeiten werden die entsprechenden Strukturen als «pellicular fibrils» (VICKERMAN, 1962), «sub-pellicular striations» (MEYER & PORTER, 1963) oder «subpellicular tubules» (ANDERSON & ELLIS, 1965) beschrieben.

Die Struktur dieser Periplast-Tubuli ist bei allen drei Entwicklungsformen gleich. Es sind röhrenförmige Elemente mit einem Durchmesser von 200—250 Å, die ungefähr 100 Å von der Zellmembran entfernt verlaufen (Abb. 1 b, 3, 6). Im allgemeinen liegen die einzelnen Tubuli in sehr regelmäßigen Abständen von ca. 300 Å nebeneinander (Abb. 3, 6, 28). Bei den sphaeromastigoten Formen sind sie manchmal unregelmäßig angeordnet und fehlen streckenweise vollständig (Abb. 36).

Einige Periplast-Tubuli — in der Regel sind es deren vier — begleiten die Einstülpung der Zellwand in die Geißeltasche hinein und führen, neben dem Reservoir, bis auf die Höhe des Basalkörpers (Abb. 14, 24, Fig. 3).

Gegen das Ende der Zellen hin hören einzelne Tubuli unvermittelt auf, so daß ihre Zahl abnimmt, der Abstand zwischen zwei benachbarten Elementen aber immer gleich bleibt (vgl. Tangentialschnitte Abb. 2 a, b). In Querschnitten durch die Zellspitze sind daher nur wenige Tubuli zu sehen, nur 3 bis 4 davon ziehen bis in die äußersten Enden.

Flagellum

Das Flagellum zeigt den für alle tierischen und pflanzlichen Cilien und Geißeln typischen Aufbau aus 9 + 2 Längsfibrillen, die in eine amorphe Matrix eingebettet sind. Sie sind immer nach dem

gleichen Muster angeordnet: 1 Paar einzelne Fibrillen im Zentrum umgeben von 9 peripheren Fibrillen, von denen jede in Subfibrille A und B unterteilt wird (FAWCETT, 1961).

Diese kontraktilen Elemente erscheinen im Querschnitt röhrenförmig, mit einem Durchmesser von 240—250 Å. Subfibrille A (meist etwas dicker als Subfibrille B) kann kleine Fortsätze («arms») besitzen, die gegen die B-Fibrille des nächsten Paares gerichtet sind (Abb. 4 c, f). Die beiden zentralen Fasern sind in eine nach Glutardialdehyd-Fixierung relativ elektronendichte Substanz eingebettet (Abb. 6).

Neben den äußern Geißelfibrillen finden wir eine elektronendichte Substanz (Abb. 6), die in Längsschnitten eine Gitterstruktur bildet (Abb. 7, 8 a). Diese wurde als «intra-flagellar structure» oder «honey comb» beschrieben (ANDERSON & ELLIS, 1965; MILDER & DEANE, 1967). Manche Autoren halten sie für die «undulierende Membran» (wir werden später auf diese Frage zurückkommen). Die Gitterstruktur befindet sich ebenfalls noch innerhalb der Geißel-Hüllmembran und ist durch diese auf der ganzen Länge vom Trypanosomenkörper getrennt (Abb. 7 a, 8 a).

Der Verlauf des Flagellums nach dem Verlassen der Geißeltasche ist nicht bei allen Entwicklungsformen gleich. Bei der sphaeromastigoten Form liegt die Geißel relativ gestreckt neben dem Körper (Abb. 8, 35); bei der trypomastigoten Form schlängelt sie sich entlang der Zelle, so daß in Längsschnitten immer nur Teilstücke zu sehen sind. In den epimastigoten Formen verläuft die Geißel zuerst gerade und nachher ebenfalls geschlängelt.

In allen Fällen liegt die Geißelhüllmembran in direktem Kontakt mit der Pellikula. Eine strukturelle Verbindung zwischen den beiden Membranen konnte jedoch nicht beobachtet werden.

ANDERSON & ELLIS (1965) beschreiben eine desmosomenartige Struktur, welche an den Kontaktstellen («attachment zones») eine Verbindung zwischen Flagellum und Pellikularmembran herstellen. Wir können gelegentlich eine entsprechende feingranuläre Substanz zwischen den beiden Membranen feststellen (Abb. 7 a, b). Es könnte aber sein, daß sie durch die Fixierung zustande kommt, denn auch zwischen zwei dicht nebeneinanderliegenden Zellen ist manchmal die gleiche Struktur zu sehen (Abb. 6, 14).

Basalkörper

An der Basis der Geißelfilamente befindet sich der Basalkörper (Synonyme: Blepharoplast, Kinetosom, Basalkorn, Basalkörner. Wir wollen hier den allgemeineren Begriff Basalkörper beibehalten). Es handelt sich um einen Hohlzylinder, der begrenzt wird

von 9 Fibrillen, der Fortsetzung der peripheren Geißelfibrillen (vgl. Fig. 2 und 3 und Abb. 4 und 5). Die peripheren Fibrillen bilden nach innen zwei Septen. Die zentralen Fibrillen durchstoßen das vordere Septum und enden kurz danach in einer basalen Platte (Abb. 5, 14, 32). Die weiterziehenden peripheren Fibrillen sind immer noch doppelt und scheinen manchmal mit der Hüllmembran verbunden zu sein (Abb. 4 b, e). Sie können sich nachher weiter aufteilen, so daß im Querschnitt 9 × 3 Fibrillen vorhanden sind, sogenannte «triplets» (Abb. 4 a, d), die leicht spiralig angeordnet sind. In den von GIBBONS & GRIMSTONE (1960) beschriebenen Flagellaten wird der ganze Basalkörper von solchen dreifachen Fibrillen begrenzt. Der ganze Komplex des Basalkörpers, vom Ende der zentralen Fibrillen an, mißt 0,4—0,5 μ. Er ist bei allen Entwicklungsformen gleich gebaut.

Zu Beginn einer Zellteilung verdoppelt sich der Basalkörper. In Abb. 1 a ist neben der ersten Geißel bereits der Basalkörper der Tochterzelle zu erkennen. Die sich bildende zweite Geißel wächst in die schon bestehende Geißeltasche vor. Es ist nicht sicher festzustellen, wie sich dieser Vorgang der Neubildung der Geißel abspielt: ob vom Basalkörper ausgehend neue Filamente einzeln vorwachsen, oder ob die Fibrillen in der Grundsubstanz neu organisiert werden (Abb. 14). Wir können nur wahrnehmen, daß oft zwei fertig ausgebildete Flagellen in der gleichen Geißeltasche liegen (Abb. 4 f).

Auffallend ist die strukturelle Ähnlichkeit zwischen dem Basalkörper und den Centriolen (FAWCETT, 1966). Die beiden Organellen können auch in bezug auf ihre Funktion verglichen werden. Sie leiten beide die Zellteilung ein und stehen in Verbindung mit tubulären Elementen (mit Geißelfibrillen, beziehungsweise Spindelfibrillen).

Zellkern

Der Zellkern der epimastigoten Form ist rundlich. In der metacyclischen trypomastigoten Form ist der Kern, wahrscheinlich infolge der schlankeren Gestalt der Zelle, viel schmaler und langgezogen, bis 3,5 μ lang (Abb. 1 b, 41). Bei sphaeromastigoten Formen findet man sowohl runde als auch längliche Kerne.

Abgesehen von diesen Unterschieden ist der Kern bei allen drei Formen gleich aufgebaut. Zwei Membranen («unit membranes») umschließen das Kernplasma. Gelegentlich ist die äußere Membran dicht mit Ribosomen besetzt (Abb. 9). Die OsO_4-Fixierung allein erlaubt keine Differenzierung in Eu- und Heterochromatin, das Karyoplasma erscheint homogen aufgebaut und wird mit Ausnahme

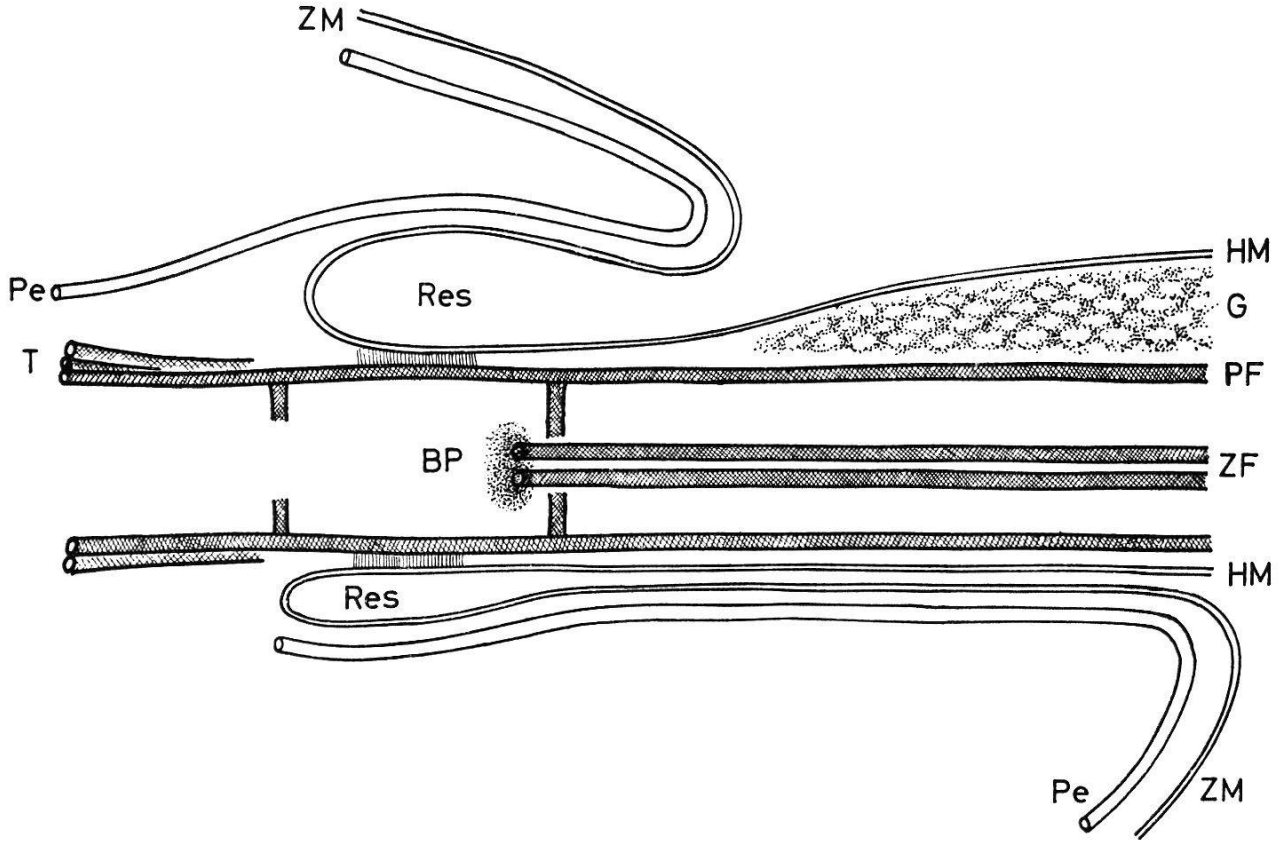

Fig. 3. Medianer Längsschnitt durch Basalkörper und Geißel. BP = Basalplatte der zentralen Geißelfibrillen, G = Gitterstruktur, HM = Geißel-Hüllmembran, Pe = Periplast-Tubuli, PF = periphere Geißelfibrillen, Res = Reservoir, ZM = Zellmembran (Pellikula), T = «Triplets».

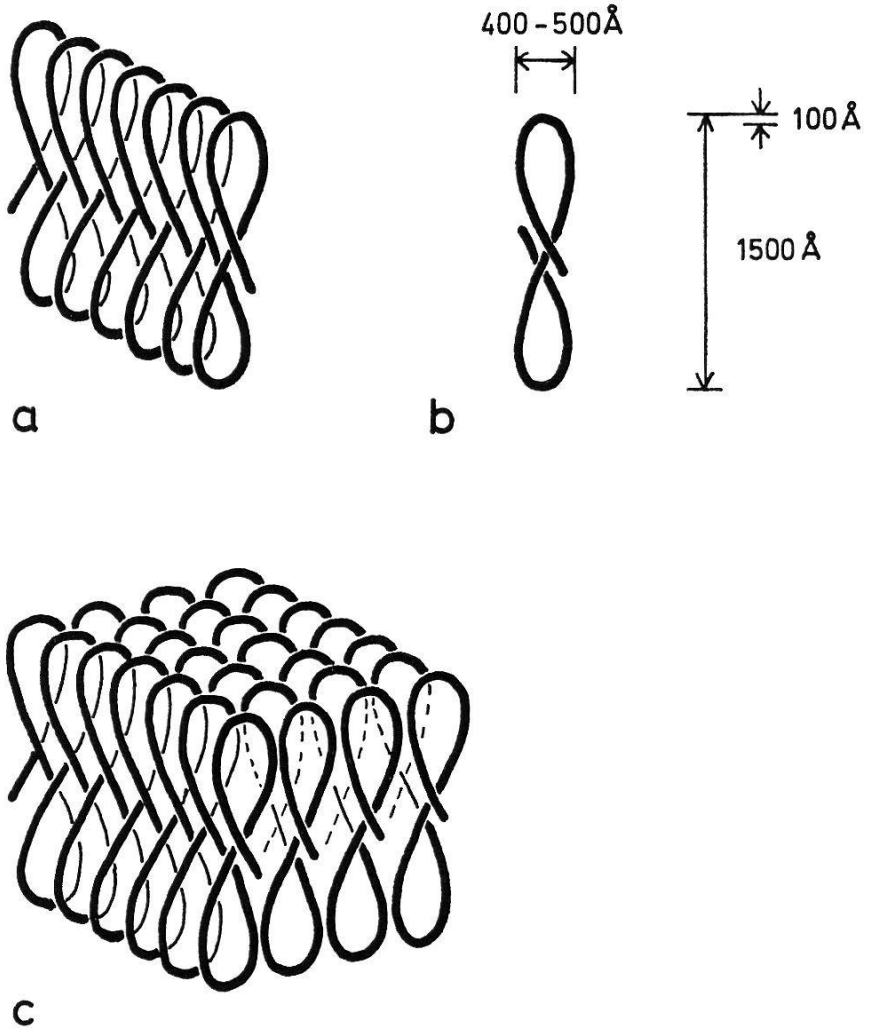

Fig. 4. DNS-Fibrillen im Kinetoplasten. Die 100 Å dicken DNS-Fibrillen sind in Figur-8-förmigen (b) Doppelschleifen zu kontinuierlichen Reihen angeordnet (a). Mehrere dieser Einheiten nebeneinandergelagert bilden den scheibenförmigen Kinetoplasten der epimastigoten Form (c).

des elektronendichten Nucleolus gleichmäßig kontrastiert (Abb. 10, 11, 30, 41, 42). Glutardialdehyd-Vorfixierung und Uranylacetat-Kontrastierung hingegen lassen das Chromatin deutlich gegenüber der Matrix hervortreten. Das kontrastreichere Heterochromatin ist an der Peripherie und um den Nucleolus angeordnet (Abb. 9, 16, 33).

Relativ wenige Kernporen stellen die Verbindung zwischen Karyoplasma und Cytoplasma her. Die äußere und die innere Kernwand gehen hier direkt ineinander über. Die Öffnung der Poren hat einen Durchmesser von 350—400 Å und ist von einem Diaphragma durchzogen (Abb. 10). Die Kernmembran ist an den Rändern etwas verdickt; das erkennen wir besonders in einem tangential zur Kernoberfläche verlaufenden Schnitt, wo die Poren als dickrandige Öffnungen mit einem Gesamtdurchmesser von ungefähr 800 Å erscheinen (Abb. 31). Eine strukturelle Verbindung zu den Membranen des endoplasmatischen Reticulum konnte nicht festgestellt werden.

Nach NOBLE (1955) bleibt bei der Kernteilung die Kernmembran bestehen. Abb. 11 bestätigt diese Annahme: in dieser Teilungsform kann man 150 Å dicke Microtubuli erkennen, welche die durchgeschnürten Kernhälften verbinden. Möglicherweise handelt es sich dabei um Spindelfasern, die innerhalb der Kernmembran gebildet worden sind. In der Regel teilt sich der Zellkern erst nach dem Kinetoplasten. Gelegentlich kann aber auch eine abnormale Teilungsfolge beobachtet werden, wo die beiden Kerne schon getrennt nebeneinanderliegen, die Kinetoplasten aber noch verbunden sind.

Kinetoplast

Der Kinetoplast ist eine Organelle, die ausschließlich bei Flagellaten der Familien *Trypanosomatidae* und *Bodonidae* bekannt ist. In der Arbeit von MÜHLPFORDT (1964) findet sich eine ausführliche Zusammenstellung und Diskussion aller bis dahin bekannten Literatur über Terminologie, Struktur und Funktion des Kinetoplasten.

Wie wir schon bei unseren lichtmikroskopischen Untersuchungen gesehen haben, sind die drei Entwicklungsstadien von *T. cruzi* unter anderem ausgezeichnet durch unterschiedliche Form und Lage des Kinetoplasten. Der Kinetoplast befindet sich immer in unmittelbarer Nähe der Geißelbasis. Bei der epimastigoten Form ist die Organelle scheibenförmig und liegt vor dem Zellkern. Der Kinetoplast der trypomastigoten Form ist kugelförmig (an der dem Basalkörper zugekehrten Seite ist die Kugel leicht eingebuchtet; Abb. 38, 39, 45) und liegt im hinteren Körperende. In der sehr schmalen metacyclischen Form wird die Zellspitze durch den großen Kinetoplasten aufgetrieben (Abb. 1 b, 38). In den sphaero-

mastigoten Stadien finden wir scheibenförmige oder kugelförmige Kinetoplasten (Abb. 30 bis 37).

Morphologie

Nach MÜHLPFORDT (1963, 1964) sind immer drei Elemente am Aufbau des Kinetoplasten beteiligt. Wir können auch bei *T. cruzi* diese verschiedenen Strukturen unterscheiden.

1. Die Organelle ist begrenzt von einer doppelten Membran (bestehend aus zwei «unit membranes»).

2. Unmittelbar daran anschließend und den ganzen Kinetoplasten ausfüllend befindet sich eine feingranuläre, amorphe Substanz (Matrix), die besonders gut bei Glutardialdehyd fixierten Präparaten zu erkennen ist (Abb. 12 c, 14, 20, 21, 37).

3. In diesen granulären Massen ist eine el-dichte, fibrilläre Struktur eingelagert. An diese Zentralstruktur ist die DNS des Kinetoplasten gebunden.

Je nach dem verwendeten Fixierungsmittel weist die DNS-Struktur eine ganz unterschiedliche Anordnung auf. Die folgenden Beschreibungen beziehen sich auf die mit Glutardialdehyd vorfixierten Präparate. Nach OsO_4-Fixierung ist die Struktur nicht so regelmäßig erhalten.

Die DNS-Zentralstruktur scheint aus zusammenhängenden Fibrillen zu bestehen. Die Fibrillen sind ~ 100 Å dick und in Figur-8-förmige, kontinuierliche Schleifen angeordnet. Die Höhe der Schleifen beträgt ca. 1500 Å, die Weite zwischen den Fibrillen 200—300 Å. Eine räumliche Rekonstruktion führt zu folgendem Schema (Fig. 4 a). Die Baueinheiten sind die linear angeordneten Doppelschleifen, welche von vorn gesehen eine 8-Figur bilden (Fig. 4 b), von der Seite hingegen eine Schlangenlinie oder «Spirale» (vgl. SCHULZ & MACCLURE, 1961). Die Windungen können mehr oder weniger eng «spiralisiert» sein. Mehrere solcher Einheiten können nun nebeneinander, respektive ineinander geschoben werden. Dadurch wird der Raum gleichmäßig ausgefüllt (Fig. 4 c).

Zum besseren Verständnis stellen wir uns das räumliche Modell des Kinetoplasten nicht als Scheibe, sondern als rechteckige Platte vor. Wir können somit verschiedene Schnittrichtungen unterscheiden: a) Querschnitt senkrecht zu den Reihen, b) Querschnitt parallel den Reihen, c) Horizontalschnitt (entspricht einem Aequatorialschnitt durch den Kinetoplasten). Ein Schnitt a ergibt das typische Bild einer Doppelreihe, bestehend aus nebeneinandergereihten 8-Schleifen mit deutlichem Mittelstreifen (Abb. 12 a, 14). Schnitt b ergibt dichte Lagerung der Fibrillen ohne deutliche Mittellinie (Abb. 12 f, 17 b, e). Eine Verwischung dieser regelmäßigen Struktur kommt zustande erstens durch schräge Schnitt-

richtung und zweitens durch die Schnittdicke (sie umfaßt meistens mehrere hintereinanderliegende Windungen); deshalb ist nicht in allen Schnitten die regelmäßige Doppelreihe erkennbar. Im Horizontalschnitt c sind die DNS-Fibrillen quer getroffen (Abb. 13). Sie scheinen aus noch kleineren Einheiten zusammengesetzt zu sein. Nach unseren Aufnahmen beurteilend, glauben wir nicht, daß es sich dabei um tubuläre Elemente handelt. Eine tubuläre Anordnung kann vorgetäuscht werden, wenn mehrere 100 Å-Fibrillen zusammengelagert sind.

Wie verhält sich nun die DNS-Zentralstruktur im Verlauf der Teilung des Kinetoplasten? Nach Beurteilung der Schnittpräparate können zwei verschiedene Teilungsmechanismen angenommen werden. Die häufigere Teilungsart ist die allgemein beschriebene Querteilung. Der Kinetoplast verlängert sich bis zur doppelten Größe; die Zentralstruktur bleibt dabei als durchgehende Doppelreihe vollständig erhalten. Der zweite Basalkörper wird gebildet und nachher wird die Scheibe in der Mitte quer durchgeschnürt (Abb. 1 a, 14, 15, 16, Fig. 5 B).

In selteneren Fällen (ca. 10% aller beobachteten Teilungsformen) finden wir eine Anordnung der DNS-Fibrillen, welche auf eine zweite Teilungsrichtung schließen lassen: eine aequatoriale Teilung parallel zur Längsachse des Kinetoplasten. Dabei wird zuerst die DNS-Struktur verdoppelt, zwei Doppelreihen liegen übereinander in der gleichen Hülle (Abb. 12 b, e, 17 a). Zur selben Zeit werden auch schon der zweite Basalkörper und die zweite Geißel gebildet. Nachher verschiebt sich die obere DNS-Scheibe an den Rand der ersten (Abb. 17 b) und gleitet neben diese, so daß die beiden Kinetoplasten nebeneinander zu liegen kommen (Abb. 17 c—e, Fig. 5 C—E).

Mit Hilfe unseres Modells können wir versuchen, uns den Mechanismus dieser beiden Teilungsarten vorzustellen. Die einzelnen Einheiten (Doppelreihen) sind gegeneinander verschiebbar, sowohl in der horizontalen als auch in der vertikalen Ebene. Angenommen das DNS-Material vermehre sich durch Verdoppelung jeder einzelnen Reihe (analog der Replikation der Chromosomen), so kann die nachfolgende Teilung des Kinetoplasten auf zwei Wegen erfolgen:

1. durch horizontales Auseinandergleiten der (verdoppelten) Reihen wird die Scheibe verbreitert, nachher wird sie in der Mitte quer durchgetrennt;

2. durch vertikale Verschiebung der (verdoppelten) Reihen entstehen zwei übereinanderliegende Scheiben. Die beiden Schichten gleiten auf der horizontalen Teilungsebene nebeneinander.

In den Kinetoplasten der trypomastigoten Formen (metacyclische und Blutform) ist die DNS-haltige Zentralstruktur ebenfalls

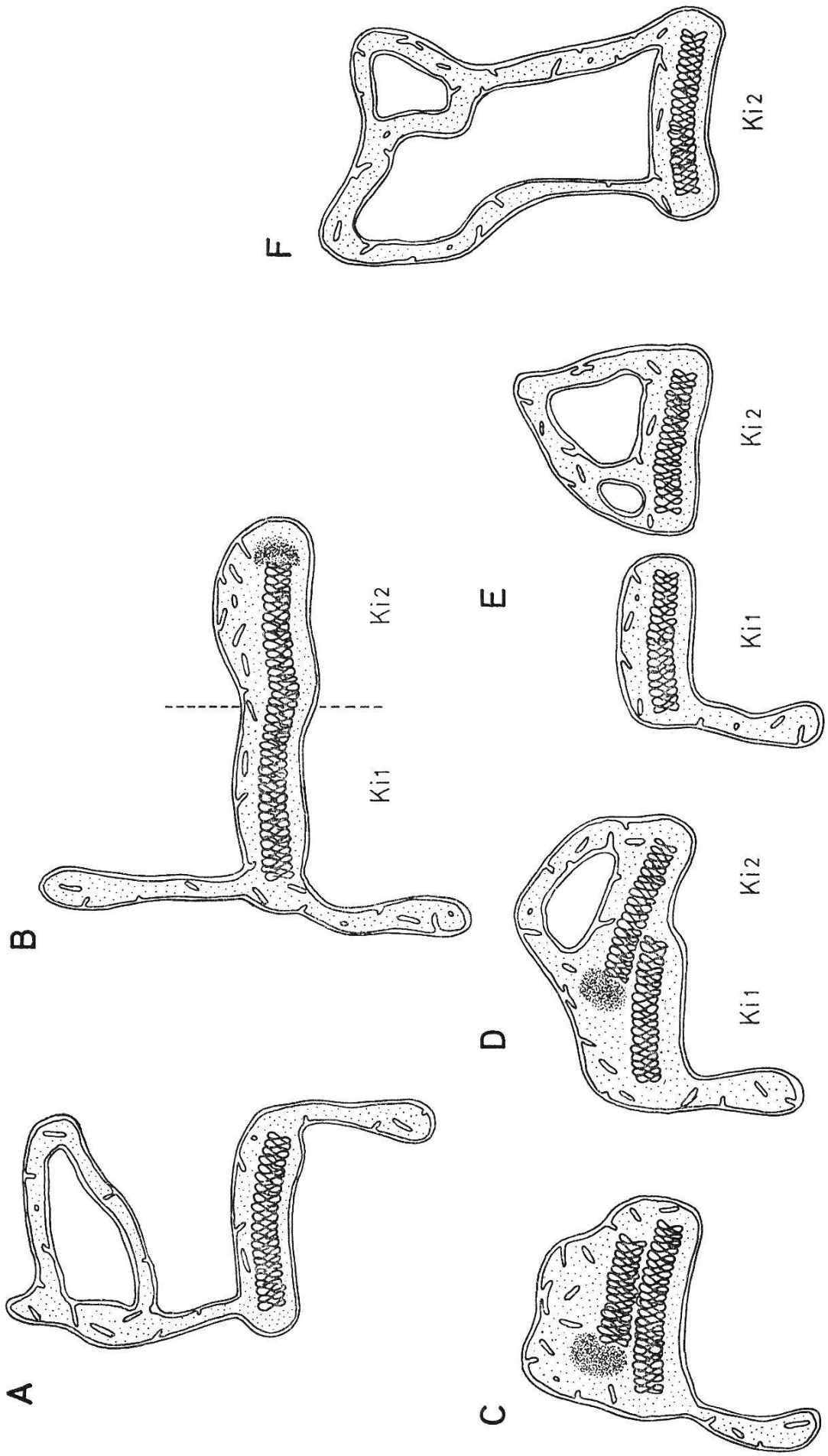

Fig. 5. Kinetoplast-Teilung und Mitochondrienbildung. A. Scheibenförmiger Kinetoplast mit verzweigtem Mitochondriensystem. B. Verlängerung der DNS-Zentralstruktur, anschließend Querteilung. C. Aequatoriale Teilung: zwei Scheiben bestehend aus DNS-Doppelreihen liegen übereinander in einer Mitochondrienerweiterung. D. Die beiden DNS-Scheiben gleiten voneinander; Bildung eines Mitochondriensäckchens am zweiten Kinetoplasten (Ki 2). E. der alte Kinetoplast (Ki 1) bleibt mit dem Mitochondriensystem verbunden. Vergrößerung des Mitochondriensäckchens am Ki 2. F. Bildung eines neuen verzweigten Mitochondriensystems am Ki 2.

aus den gleichen Bauelementen zusammengesetzt, wobei immer 3—4 Doppelreihen (d. h. räumlich gedacht «Scheiben») parallel übereinanderliegen (Abb. 12 c, d; 45, 46). In Schnittserien kann man, je nachdem ob die Schnittebene durch die Peripherie oder das Zentrum der Kugel verläuft, eine bis vier Doppelreihen erkennen. Wenn die Schnittrichtung nicht senkrecht zu den Reihen verläuft, sind die Doppelreihen nicht deutlich voneinander abgegrenzt (Abb. 39, 40).

In einigen sphaeromastigoten Formen liegt der Kinetoplast neben dem Zellkern, hat aber schon eine kugelige Gestalt mit 3 bis 4 Doppelreihen DNS (Abb. 32, 33, 34). Vermutlich sind diese Zellen im Begriff, sich zu trypomastigoten Flagellaten zu entwickeln.

Verbindung mit Mitochondrien

Der Kinetoplast steht in direkter Verbindung mit dem Mitochondriensystem der Zelle. Bei allen Entwicklungsstadien können solche Verbindungen zwischen den beiden Organellen gesehen werden (Abb. 1 a, 1 b, 18, 28, 31, 41, 42). Die doppelte Membran des Kinetoplasten geht dabei direkt in die Hüllmembran der Mitochondrien über. Es besteht auch keine strukturelle Trennung zwischen der Matrix der beiden Organellen (Abb. 12 c, 18, 21). Sowohl in den Mitochondrien als auch im Kinetoplasten bildet die innere der beiden begrenzenden Membranen tubuläre und lamellenförmige Einstülpungen, welche in die feingranuläre Grundsubstanz hineinragen (Abb. 1 a, 1 b, 12 c, 14, 16, 38, 42, 46). Man könnte also sagen, die DNS-Doppelreihen sind in eine Erweiterung des Mitochondriensystems eingelagert; der Kinetoplast wäre demnach ein Bestandteil des Mitochondriensystems. Wir werden in einem späteren Kapitel auf diesen Zusammenhang zurückkommen.

Im Kinetoplasten der epimastigoten Form können Zonen auftreten, in welchen die regelmäßige Struktur der DNS unterbrochen ist. An diesen Stellen ist eine Anhäufung granulärer el-dichter Substanz zu sehen. Sie besteht aus 60—80 Å großen Grana und sieht aus wie eine Verdichtung der Matrix.

Solche granuläre Massen finden wir vor allem in Teilungsstadien des Kinetoplasten; sie sind entweder am Rand der Scheibe angehäuft (Abb. 1 a, 12 e, 17 a—c, Fig. 5 B—D) oder in der Mitte, wo sie die DNS-Reihe «aufbrechen» (Abb. 12 f).

Eine strukturelle Beziehung zwischen dem Basalkörper der Geißel und dem Kinetoplasten konnte nicht festgestellt werden. Wir haben bei unseren Untersuchungen auch keine direkte Verbindung zwischen der Kernmembran und dem Kinetoplasten beobachten können.

Mitochondrien

Die epimastigoten Formen aus dem Wanzendarm zeigen ein besonders stark entwickeltes Mitochondriensystem. Schlauchförmige Mitochondrien mit einem Durchmesser von 0,1 bis 0,2 μ durchziehen die ganze Zelle bis in ihre äußersten Spitzen (Abb. 1 a). Die Schläuche können sich verzweigen und Anastomosen bilden. Sie sind von zwei Membranen begrenzt; von der inneren Membran ragen lamellenförmige oder tubuläre Einstülpungen in die feingranuläre Matrix vor (Abb. 18). *T. cruzi* besitzt demnach Mitochondrien, welche Cristae und Tubuli enthalten (= gemischter Typ).

In manchen Zellen finden wir Mitochondrien, die knäuelförmig oder lamellenförmig um den Kinetoplasten konzentriert sind (Abb. 20—23). Wir werden über mögliche Zusammenhänge zwischen dieser speziellen Anordnung der Mitochondrien und der Kinetoplast-Teilung einerseits und der Mitochondrienbildung andererseits später diskutieren.

Die trypomastigoten Formen (metacyclische und Blutformen) enthalten ebenfalls ein verzweigtes, schlauchförmiges Mitochondriensystem, das sich bis in die Zellspitzen erstreckt (Abb. 1 b, 38, 39, 40, 41). In dieser Beziehung weichen unsere Befunde von anderen Beschreibungen ab, nach denen die metacyclischen oder adulten Formen von *T. cruzi* keine typischen Mitochondrien enthalten (Wéry & de Groodt-Lasseel, 1966; Sanabria, 1966).

Im Vergleich zu den Mitochondrien der epimastigoten Form weisen die trypomastigoten Mitochondrien eine reichere Innenstruktur auf; die Cristae mitochondriales sind länger und dichter gelagert (Abb. 39). In den Blutformen sind diese Merkmale besonders stark ausgeprägt (Abb. 42, 46).

Auch in den sphaeromastigoten Formen sind schlauchförmige Mitochondrien mit dem Kinetoplasten verbunden. Sie sind weniger verzweigt als in den epimastigoten Stadien, ihre Innenstruktur ist unterschiedlich stark entwickelt (Abb. 30, 31).

Wahrscheinlich bildet das ganze verzweigte Mitochondriensystem eine strukturelle und funktionelle Einheit, die auch den Kinetoplasten mit einschließt. Die verschiedenen kleinen und großen Mitochondrien im Dünnschnitt sind nur Teilstücke dieses zusammenhängenden Systems.

Endoplasmatisches Reticulum

Das Cytoplasma der epimastigoten Form ist durchzogen von einem Netz feiner Kanälchen, das sich aus verzweigten Röhrchen

(mit einem Durchmesser von ca. 400 Å) und kleinen Bläschen (bis 800 Å Durchmesser) zusammensetzt (Abb. 1 a, 18). Die einzelnen Elemente sind begrenzt von einer 80—100 Å dicken «unit membrane». Dieses Membransystem ist vergleichbar dem glatten endoplasmatischen Reticulum, wie es für viele Zellen von Metazoen beschrieben wird. Wir finden bei den epimastigoten Formen aus dem Wanzendarm nie mit Ribosomen besetzte «granuläre» Membranen.

Bei der metacyclischen trypomastigoten Form ist das endoplasmatische Reticulum nicht so ausgeprägt entwickelt. Wir finden kein dichtes Netz von tubulären Elementen, sondern nur vereinzelte Tubuli, Bläschen und mit Ribosomen besetzte Membranstücke (Abb. 38). Eine ähnliche Anordnung beobachten wir auch in den sphaeromastigoten Formen, bei denen manchmal Ribosomen an kürzere Membranen angelagert sind (Abb. 30, 31, 37).

Am auffälligsten ist die Ausbildung der cytoplasmatischen Membranen in den trypomastigoten Blutformen. Sie enthalten die typisch «rauhe oder granuläre» Form des endoplasmatischen Reticulums, bestehend aus flachen langen Säckchen, die im Dünnschnitt als Röhrchen erscheinen und die dicht mit Ribosomen besetzt sind (Abb. 42 bis 46).

Golgi-Komplex

Ebenfalls aus glatten Membranen zusammengesetzt ist der Golgi-Komplex, der in Flagellaten oft auch als Parabasalkörper bezeichnet wird (GRIMSTONE, 1959; GRASSÉ, 1966). Er liegt bei epimastigoten und sphaeromastigoten Formen meistens in der Nähe der Geißelbasis und des Kinetoplasten (Abb. 1 a, 24—28), bei trypomastigoten Formen in der Nähe des Zellkerns (Abb. 1 b). Der Golgi-Komplex besteht aus einer Reihe parallel übereinanderliegender flachgedrückter Säckchen (= Golgi-Zisternen), die im Dünnschnitt wie feine Kanälchen aussehen. An den Rändern erweitern sich die Lamellen und kleine Bläschen werden abgeschnürt. Die Lamellen sind 150—200 Å dick und bis zu 1 μ lang. Ihre Zahl variiert stark: es können nur wenige, aber auch mehr als zehn Zisternen übereinandergeschichtet sein. Morphologisch gehören die Elemente des Golgi-Komplexes dem gleichen Typ cytoplasmatischer Membranen an wie die oben beschriebenen Tubuli des endoplasmatischen Reticulums. Einige Aufnahmen aus Teilungsformen lassen vermuten, daß bei der Zellteilung der Golgi-Komplex auf die beiden Tochterzellen verteilt wird, indem die langen Zisternen in der Mitte durchgeschnürt werden (Abb. 26, 27).

In der Nähe der Golgi-Zisternen treten oft bestimmte Zelleinschlüsse auf. Es handelt sich um Vakuolen, die von einer «unit membrane» begrenzt sind und kleine Bläschen und Tröpfchen enthalten (Abb. 24, 25, 29). In welcher Reihenfolge diese Vakuolen entstehen, kann man anhand eines fixierten statischen Bildes nicht aussagen. Es könnte sein, daß die kleinen, von den Golgi-Zisternen abgeschnürten Bläschen sich zu größeren Tröpfchen vereinigen und somit die im Golgi-Feld gebildeten oder gesammelten Sekrete enthalten.

Cytoplasma-Einschlüsse

Im Cytoplasma sind verschiedene Granula und Vakuolen verteilt. Man kann drei verschiedene Sorten von Einschlußkörpern unterscheiden, die alle von einer «unit membrane» begrenzt und mit verschieden elektronendichten Substanzen gefüllt sind.

1. Granula aus stark osmiophilem, feinkörnigem Material von 0,1 bis 0,25 μ (Abb. 1 a, 10, 28, 31, 46). Vergleiche mit anderen Arbeiten (STEINERT & NOVIKOFF, 1960; WÉRY & DE GROODT-LASSEEL, 1966) lassen uns vermuten, daß es sich bei diesen Strukturen um Lysosomen handelt. Eine Bestimmung von saurer Phosphatase wurde allerdings nicht durchgeführt. BIRD et al. (1966) beschreiben entsprechende Einschlußkörper in *Trypanosoma rhodesiense* als Granula Typ I.

2. Vakuolen verschiedener Größe mit homogenem, je nach Fixation mehr oder weniger elektronendurchlässigem Inhalt stellen eventuell Lipidvakuolen dar (Abb. 1 a, 23, 28, 30). Sie entsprechen den Granula Typ II von BIRD et al. (1966).

3. Die dritte Sorte von Einschlußkörpern wurde schon im Kapitel Golgi-Komplex erwähnt. Es sind die großen, mit Sekrettröpfchen gefüllten Vakuolen (Abb. 19, 37). Ähnliche Strukturen wurden von WÉRY & DE GROODT-LASSEEL (1966) als «corps multivésiculaires» mit unbekannter Funktion beschrieben.

Die epimastigoten Stadien enthalten alle drei beschriebenen Typen von Einschlüssen. Vor allem die langen Formen aus dem Enddarm sind oft dicht angefüllt mit Einschlüssen und Vakuolen.

Bei den sphaeromastigoten Formen konnten — in sehr unterschiedlichen Mengen — ebenfalls alle drei Strukturen beobachtet werden.

In den trypomastigoten Stadien kommen nur die beiden erstgenannten Zelleinschlüsse vor, die größeren, mit Tröpfchen gefüllten Vakuolen wurden nie beobachtet. Manchmal erkennt man hingegen eine weitere Sorte Granula: 300—400 Å große, osmiophile Partikel (Abb. 38, 41).

In Glutardialdehyd-OsO_4-fixierten Präparaten können wir ge-

legentlich cytoplasmatische Mikrotubuli erkennen, die kreuz und quer durch das Cytoplasma verlaufen und oft bündelartig angeordnet sind (Abb. 29). Diese Mikrotubuli sind etwas kleiner im Durchmesser (ca. 200 Å) und dünnwandiger als die Tubuli des Periplasten und des Flagellums. Ihre Funktion ist unbekannt; wir fanden sie vor allem in epimastigoten Teilungsformen.

Ribosomen

Im Cytoplasma sind zahlreiche 150—200 Å große Granula («Palade's particles» oder Ribosomen) verteilt, die entweder einzeln oder in Gruppen (Polysomen) vorkommen. Bei epimastigoten Formen liegen sie vorwiegend einzeln, locker verteilt in der Grundsubstanz, nie aber gebunden an das ER. In Teilungsformen sind sie vermehrt und häufig zu Polysomen gruppiert (Abb. 11, 16, 26, 27, 29).

Das Cytoplasma der trypomastigoten Formen enthält viel mehr einzeln, aber dicht gelagerte Ribosomen. In Blutformen sind sie regelmäßig auch an Membranen des ER gebunden. Bei metacyclischen, trypomastigoten und bei sphaeromastigoten Formen sind oft einzelne Ribosomen an kürzere Membranstücke angelagert.

C. Diskussion

Periplast

In Übereinstimmung mit anderen Beschreibungen finden wir die Hülle der Trypanosomen aus einer Plasmamembran (= Pellikula) und den darunter liegenden Periplast-Tubuli aufgebaut. In den uns aus der Literatur bekannten Darstellungen besteht der Periplast aus parallelen Längsfibrillen oder aus Tubuli, die ohne Anfang und Ende rund um die Zelle verlaufen (MEYER et al., 1958; SCHULZ & MACCLURE, 1961; VICKERMAN, 1962; SANABRIA, 1963). Es drängt sich nun die Frage auf, wie diese Tubuli über die ganze Zelle hin angeordnet sind. Verzweigen sie sich, oder sind an den dickeren Stellen des Körpers zusätzliche Elemente eingebaut?

MEYER & PORTER (1954) beschreiben an Totalpräparaten von *T. cruzi,* daß die subpellikulären Fibrillen durch fortgesetzte Verzweigung an Zahl zunehmen. PITELKA (1963) vermutet, daß die Fibrillen spiralig um den Körper der Flagellaten verlaufen und an den Zellspitzen durch Verschmelzung zusammenlaufen.

In den tangential zur Zelloberfläche verlaufenden Schnitten konnten wir aber sehen, daß sich die Tubuli nicht verzweigen (resp. verschmelzen), sondern daß die einzelnen Elemente eines nach dem

andern aufhören, ohne miteinander in Berührung zu kommen (Abb. 2a, b).

Im Zusammenhang mit dem Formenwechsel wäre es vor allem interessant, den Verlauf der Fibrillen in den sphaeromastigoten Formen zu kennen. Wenn man sich z. B. vorstellt, die Tubuli seien wie Meridiane um eine Kugel angeordnet, so müßten zwei Pole vorhanden sein, von denen die Fibrillen ausstrahlen. Mit diesem Modell könnte man sich erklären, daß durch Streckung der Mikrotubuli die Zellen wieder trypomastigote oder epimastigote Formen annehmen würden. Die Frage, ob und wie sich die sphaeromastigoten Stadien zu Trypanosomen «ausrollen» können, wäre allerdings damit nicht gelöst.

Da aber, wie oben gezeigt, die Periplastfibrillen in den sphaeromastigoten Formen oft unregelmäßig angeordnet sind, scheint es nicht ausgeschlossen, daß sie während der Umwandlung abgebaut und erst nachträglich wieder aufgebaut werden. AIKAWA (1966) beschreibt einen entsprechenden Vorgang bei Plasmodien. Die freien Merozoiten besitzen eine Schicht subpellikulärer Mikrotubuli. Beim Eindringen in Erythrocyten verschwinden die Tubuli; sie werden erst nach der Teilungsphase in den Tochtermerozoiten wieder neu gebildet.

Die Tubuli des Periplasten besitzen wahrscheinlich kontraktile Fähigkeiten wie die «Fibrillen» der Cilien und Geißeln und bestehen offenbar wie diese aus Proteinen, da sie durch Pepsin- oder Proteinase-Behandlung abgebaut werden (MEYER & PORTER 1954). Sie stellen vermutlich eine Art geschmeidiger Stützelemente dar und dienen der Aufrechterhaltung der Körperform. In einer Reihe von Zellen anderer Organismen sind nämlich strukturell ähnliche Elemente beschrieben worden — zusammengefaßt unter dem Begriff «Mikrotubuli» —, denen ebenfalls die Rolle eines Zellskeletts zugeschrieben wird (FAWCETT, 1966).

Cytostom — Geißelreservoir

STEINERT & NOVIKOFF (1960) beschreiben bei *Trypanosoma mega* ein «Cytostom», das von einer Einbuchtung der Periplastfibrillen gebildet wird und nicht weit von der Geißelbasis entfernt liegt. Die Autoren zeigen ferner, daß in diesem «Cytostom» durch Pinocytose Ferritin aufgenommen wird.

Wir sehen bei *T. cruzi* nur ganz selten eine ähnliche Anordnung von einigen Periplastfibrillen, die ins Zellinnere hineinragen. Wir vermuten aber, es handle sich dabei um einen Schnitt entlang der eingebuchteten Membran der Geißeltasche und um die vier Periplastfibrillen, welche diese Einstülpung bis zum Reservoir beglei-

ten. Wenn nämlich zusätzlich zum Reservoir ein Cytostom vorhanden wäre, müßte diese Struktur häufiger, vor allem auch in den andern Entwicklungsstadien, zu finden sein.

Die von STEINERT & NOVIKOFF (1960) beobachtete Pinocytose würde unserer Ansicht, es handle sich beim «Cytostom» um die Geißeltasche, nicht widersprechen. Schon mehrere Autoren haben nämlich im Geißelreservoir von Trypanosomen Pinocytose beobachten können (GRASSÉ, 1966; HERBERT, 1965; JADIN & CREEMERS, 1966; WÉRY & DE GROODT-LASSEEL, 1966).

«Undulierende Membran»

Aus der Lichtmikroskopie ist uns bekannt, daß die Geißel durch eine «undulierende Membran» mit dem Trypanosomakörper verbunden ist. Die elektronenmikroskopischen Präparate zeigen uns aber, daß keine strukturelle Verbindung besteht, die den heutigen Begriffen einer Membran entspricht. Man sollte deshalb bei elektronenmikroskopischen Beschreibungen von Trypanosomen von dieser Bezeichnung abkommen. (Anders sind die Verhältnisse z. B. bei Spermien, wo eine doppelte Membran die Geißel und die Zelle verbindet. Vgl. FAWCETT, 1961).

Wir können uns vorstellen, daß die «undulierende Membran» dadurch zustande kommt, daß beim Ausstreichen auf dem Objektträger die Geißelhülle, welche durch Adhäsion am Körper «befestigt» ist, auseinandergezogen wird.

Wie der Kontakt zwischen Geißel und Zellmembran aufrecht erhalten wird und ob dabei eine Desmosomenstruktur oder die Gitterstruktur (die allerdings in der Geißelhülle eingeschlossen ist) eine Rolle spielen, können wir nicht entscheiden.

Kinetoplast

Da der Kinetoplast mit Kernfarbstoffen gut darstellbar ist, wurde er ursprünglich als zweiter Zellkern angesehen. Durch die Feulgenfärbung und durch Markierung mit Thymidin (STEINERT et al., 1958) konnte der Gehalt an DNS bewiesen werden. Die DNS des Kinetoplasten unterscheidet sich aber in ihrer chemischen Zusammensetzung und in der Homogenität von der nucleären DNS (DU BUY et al., 1965, 1966).

Im Gegensatz zur Kern-DNS ist die Kinetoplasten-DNS in elektronenmikroskopischen Präparaten immer als eine regelmäßige, geordnete Struktur darstellbar. Die zusammenhängenden DNS-Fibrillen können in ihrer Größenordnung ($\phi \sim 100$ Å) mit den Elementarfibrillen von Chromosomen verglichen werden.

Wir haben gesehen, daß eine regelmäßige Darstellung der DNS-

Zentralstruktur im Kinetoplasten von der Fixierungstechnik abhängig ist. Nach Glutardialdehyd-OsO_4-Fixierung erscheint die DNS-Struktur in allen Entwicklungsformen aus gleichen Einheiten aufgebaut zu sein. Die unterschiedliche Wirkung der Fixierung läßt sich besonders deutlich an den Kinetoplasten der trypomastigoten Formen zeigen. Die bis heute fast ausschließlich verwendete OsO_4-Fixierung nach Palade führte zur Vorstellung, daß bei der Umwandlung in die trypomastigote Form die vorhandene DNS auf das ganze Volumen des viel größeren, kugelförmigen Kinetoplasten verteilt («aufgelockert» oder «verdünnt» werde) (Abb. 1b, 38, 41, 42). Nach Glutardialdehyd-OsO_4-Fixierung sehen wir aber, daß der große kugelförmige Kinetoplast ebenfalls vollständig ausgefüllt ist von mehreren übereinandergeschichteten Lagen der DNS-Einheiten (Abb. 12c, d, 45, 46).

Unsere Aufnahmen zeigen also, daß die Größe und Form des Kinetoplasten (vom Lichtmikroskop her gesehen) lediglich durch die Menge der vorhandenen DNS bestimmt wird. Mit der Vergrößerung des Volumens muß also eine Vermehrung der DNS-Struktur einhergehen.

In seinen vergleichenden elektronenmikroskopischen Untersuchungen über normale Trypanosomen und Stämme mit atypischem Kinetoplasten konnte MÜHLPFORDT (1963) schon zeigen, daß der lichtmikroskopische Nachweis des Kinetoplasten von seinem DNS-Gehalt abhängt. In der Kinetoplastregion von mit Trypaflavin behandelten, «kinetoplastfreien» Trypanosomen ist wohl eine Erweiterung des Mitochondriensystems zu sehen, die DNS-haltige Zentralstruktur aber fehlt. Deshalb gelingt die Anfärbung mit den üblichen Kernfarbstoffen und damit die Darstellung des Kinetoplasten im Lichtmikroskop nicht mehr. TRAGER & RUDZINSKA (1964) kamen ebenfalls zum Schluß, daß der Verlust des Kinetoplasten bei Acriflavin-Behandlung auf einen Verlust der DNS zurückzuführen sei.

Wir haben versucht, die verschiedenen Aspekte der DNS-Zentralstruktur in Teilungsformen und in Entwicklungsstadien anhand eines Modells zu diskutieren. Die Annahme, die DNS-Fibrillen seien in parallelen Reihen angeordnet, hat den Vorteil, daß die einzelnen Doppelreihen gegeneinander verschiebbar sind, so daß sich die meisten beobachteten Kinetoplastbilder auf die gleichen Bauelemente zurückführen lassen.

Erstens lassen sich mit dem Modell die beiden beobachteten Teilungsmechanismen durch Verdoppelung und horizontale, resp. vertikale Verschiebung der DNS-Einheiten erklären. Dabei bleibt allerdings die Frage offen, weshalb zwei verschiedene Teilungsarten vorkommen. MILDER & DEANE (1967) beschreiben für *T.*

conorhini ebenfalls die zweite Teilungsfolge und schlagen vor, daß nach der horizontalen Teilung eine DNS-Reihe neben die andere wandert, so daß ein durchgehendes Band zustande kommt, welches nachher in der Mitte durchgeschnürt wird. Das erste Teilungsbild (verbreiterte, eingebuchtete Scheibe) wäre somit nur ein Stadium der horizontalen Teilung. Es scheint uns aber kaum möglich, daß die beiden DNS-Einheiten nach einem Voneinandergleiten so kontinuierlich nebeneinander zu liegen kommen (z.B. Abb. 14, 15).

Aus unserem Modell können wir zweitens ersehen, daß die Vergrößerung und Umformung des Kinetoplasten beim Übergang von der Scheiben- zur Kugelform durch Vermehrung und Übereinanderschichten mehrerer DNS-Einheiten zustande kommen kann.

Ein wesentliches Problem muß weiterhin unbeantwortet bleiben: warum ist die DNS in den einzelnen Entwicklungsformen verschieden angeordnet, beziehungsweise weshalb enthalten sie unterschiedliche Mengen von DNS? Sehr wahrscheinlich sind diese morphologischen Unterschiede ein Ausdruck von stoffwechselphysiologischen Änderungen. Vielleicht besteht ein Zusammenhang zwischen der reicheren Ausbildung der Mitochondrien-Innenstruktur (lange, dicht gelagerte Cristae) und der vermehrten Kinetoplasten-DNS bei den trypomastigoten Formen. MÜHLPFORDT (1963) konnte nämlich nachweisen, daß die DNS des Kinetoplasten nur für die Bildung der Innenstruktur der Mitochondrien verantwortlich ist, sonst aber keinen morphogenetischen Einfluß hat.

Verbindung mit Mitochondrien

In allen bisher untersuchten Flagellaten der Familie *Trypanosomatidae* (vgl. zusammenfassende Arbeit von MÜHLPFORDT, 1964) steht der Kinetoplast in Verbindung mit den schlauchförmigen Mitochondrien. Der Kinetoplast wird deshalb als ein speziell organisiertes, besonders DNS-reiches Mitochondrium angesehen. Wenn wir das Mitochondriensystem als eine zusammenhängende Einheit betrachten (STEINERT, 1964), können wir sogar sagen, daß die DNS dieses «Chondrioms» in einer ganz bestimmten Region zu einer geordneten Struktur konzentriert ist; diese Region wäre der Kinetoplast.

STEINERT & STEINERT (1962) formulierten die Hypothese, daß die Kinetoplasten-DNS die genetische Information für die Mitochondrienbildung enthalte.

In diesem Zusammenhang gewinnen vielleicht die an gewissen Kinetoplasten beobachteten Strukturveränderungen an Bedeutung. Wir haben darauf hingewiesen, daß an bestimmten Stellen — vor allem in sich teilenden Kinetoplasten — die regelmäßige DNS-

Struktur verändert ist (Abb. 17 a—c, 12 e—f). Diese Bilder erinnern an die sogenannten Puffs oder Balbiani-Ringe der polytaenen Riesenchromosomen. Dort sind Auflockerungen der Chromosomenstruktur die direkte Äußerung einer genetischen Aktivität, welche sich in einer lokalen Synthese spezifischer RNS ausdrückt. Die im Kinetoplasten beobachteten, lokal begrenzten Anhäufungen feingranulärer, amorpher Substanz könnten möglicherweise als Ausdruck einer Informationsabgabe an die Mitochondrienmatrix gedeutet werden.

Verschiedene Autoren schlagen vor, die Mitochondrien würden vom Kinetoplasten gebildet, abgeschnürt und liegen nachher frei im Cytoplasma (STEINERT, 1960; SCHULZ & MACCLURE, 1961; VICKERMAN, 1962, 1963). Wenn man aber annimmt, die gesamte DNS des Mitochondriensystems sei im Kinetoplasten konzentriert, so sind die Mitochondrien nur im Zusammenhang mit dem Kinetoplasten funktionsfähig und müssen folglich ständig mit ihm verbunden bleiben. Dies setzt weiter voraus, daß in den teilungsfähigen Stadien ständig neue Mitochondrien gebildet werden.

Um dem Problem der Mitochondrienbildung näher zu kommen, müssen wir uns deshalb auf das Studium der epimastigoten Teilungsformen konzentrieren.

Beim Vergleich der Mitochondrienverteilung in den verschiedenen epimastigoten Stadien fällt auf, daß sich in den längeren Wanzendarmformen meist ein reich verzweigtes Mitochondriensystem durch die ganze Zelle erstreckt (Abb. 1 a). In den kleineren epimastigoten Formen, vor allem in den Kulturformen, sind die Mitochondrien jedoch weniger verzweigt und oft um den Kinetoplasten konzentriert. Man kann also annehmen, daß bei den sich rasch teilenden Kulturformen jedesmal eine Neubildung vom Kinetoplasten ausgeht.

Auffällig sind nun in diesem Zusammenhang die Formen, bei denen der Kinetoplast mit knäuelförmigen Mitochondriensäckchen verbunden ist (Abb. 17, 20—23). Daß es sich bei diesen Strukturen um Mitochondrien handelt, kann aus der typischen Innenstruktur abgeleitet werden.

Ist diese besondere Form der Mitochondrien Ausdruck eines stoffwechselphysiologischen Geschehens oder sind es Stadien einer Mitochondrienbildung? Da diese Knäuel vor allem in Teilungsformen auftreten, nie aber in trypomastigoten Formen, kann man sie in Beziehung bringen zur Teilung des Kinetoplasten. Bei der oben beschriebenen zweiten Teilungsart (Aequatorialteilung) sind die übereinanderliegenden DNS-Reihen oft in ein vergrößertes Mitochondriensäckchen eingebettet (Abb. 17 a—d). In Abbildung 17 a ist zugleich noch eine Verbindung mit einem schlauchförmigen

Mitochondrium zu sehen. Man kann sich vorstellen, daß eine DNS-Einheit mit dem verzweigten Mitochondriensystem der Mutterzelle in Verbindung bleibt, währenddem die zweite Scheibe bei der Verschiebung einen Teil der Mitochondrienmembran mitnimmt (Abb. 17 e). Das Mitochondriensäckchen vergrößert sich (Abb. 21, 22) und wächst wieder zu einem neuen Mitochondriensystem aus (vgl. Fig. 5 C—F). In einer Teilungsform konnte ein Stadium gefunden werden, bei dem die beiden getrennten Kinetoplasten noch in der selben Zelle liegen (Abb. 23). Der neue Kinetoplast (Ki_2) hat schon einen größeren, noch geschlossenen Mitochondrienbogen gebildet, der ältere Kinetoplast (Ki_1) ist noch mit den verzweigten Schläuchen verbunden (diese Verbindung ist nicht in der gleichen Schnittebene zu sehen, konnte aber an einer Schnittserie bestätigt werden). Ein Querschnitt durch dieses Stadium würde einem Bild entsprechen, wie es Abb. 28 zeigt.

Bei der ersten Teilungsart (Querteilung) kann der Kinetoplast einerseits in der Mitte durchgeschnürt werden; das Mitochondriensystem wird dadurch auf die beiden Tochterzellen verteilt. Andererseits ist es denkbar, daß die DNS am Rande der Scheibe auswächst; dann ist der neue Kinetoplast ebenfalls ohne Mitochondrien (vgl. Fig. 5 B).

Der hier beschriebene Vorgang der Mitochondrienbildung (ausgehend von lamellären Strukturen oder Knäueln am Kinetoplasten) scheint auch bei anderen Gattungen der Familie *Trypanosomatidae* verbreitet zu sein. PYNE (1960) beschreibt bei *Leishmania tropica* «formations concentriques» (aus Doppelmembranen bestehende konzentrische Lamellen), welche mit Erweiterungen des Kinetoplasten oder mit Mitochondrien verbunden sein können. STEINERT (1960) beobachtete an den Kinetoplasten von *Trypanosoma mega* ebenfalls konzentrisch angeordnete Membranen und diskutierte ihre Bedeutung. PANNESE (1966) beschreibt bei Neuroblasten von Hühnerembryonen konzentrische Lamellen («membranous whorls»), welche entweder mit der Kernmembran oder mit Mitochondrien verbunden sind. Er vermutet, daß ein Zusammenhang bestehe zwischen diesen Lamellenstrukturen und der Neubildung von Mitochondrien.

VICKERMAN (1962, 1963) stellt eine Hypothese auf über den Zusammenhang zwischen Mitochondrienwachstum und Morphogenese bei den afrikanischen Trypanosomen. Anhand seiner elektronenmikroskopischen Untersuchungen an Kulturformen und Blutformen von *Trypanosoma rhodesiense* postuliert er, daß der Formenwechsel im übertragenden Insekt auf Veränderungen des Stoffwechsels und den damit verbunden Änderungen des Mitochondriensystems zurückzuführen sei. Wenn die Blutform, die nur ein redu-

ziertes tubuläres vorderes Mitochondrium enthält, in den relativ sauerstoffarmen Darm der Tsetsefliege gelangt, muß eine respiratorische Anpassung an das neue Milieu erfolgen. Dies geschieht durch Auswachsen eines mit dem Kinetoplasten verbundenen hinteren Mitochondriums. Dabei wird der Kinetoplast verschoben und bewirkt eine Umwandlung der Trypanosomenform.

Wir glauben nicht, daß auch bei *T. cruzi* der Formenwechsel durch entsprechende Vorgänge erklärt werden kann. Da alle Entwicklungsformen von *T. cruzi* (Insektendarm- und Blutformen) ein mehr oder weniger ausgedehntes Mitochondriensystem besitzen, welches sich durch die ganze Zelle erstreckt, scheint eine Kinetoplastverschiebung durch einseitiges Mitochondrienwachstum nicht in Frage zu kommen.

SANABRIA (1966) geht in seiner Untersuchung über die Formen von *T. cruzi* im Rectum von *Rhodnius prolixus* nicht näher auf das Problem des Entwicklungszyklus ein. Er erwähnt indessen, die metacyclischen Trypanosomen entstehen kontinuierlich direkt aus epimastigoten Formen, indem der Kinetoplast in das hintere Körperende wandert und sich zur «posterior vacuole» umwandelt. Entsprechende Übergangsformen werden aber nicht gezeigt.

Endoplasmatisches Reticulum

Das ER ist in den verschiedenen Entwicklungsformen sehr unterschiedlich ausgebildet. Die epimastigote Form besitzt nur glatte Elemente des ER (Tubuli und verschieden große Vesikeln), die Ribosomen sind frei im Cytoplasma. Bei der trypomastigoten Blutform hingegen besteht das ER aus langen flachen Säckchen, welche dicht mit Ribosomen besetzt sind. Wir können vermuten, daß bei den trypomastigoten Formen im Wanzendarm (metacyclische Formen) und bei den sphaeromastigoten Formen der Aufbau von solchen «granulären» Membranen beginnt.

Die Beschreibungen von SANABRIA (1966) weichen in dieser Beziehung von unseren Resultaten ab. Er findet ein «rauhes» ER nicht nur in der trypomastigoten, sondern auch in der epimastigoten Form. In dieser sind manchmal granuläre cytoplasmatische Membranen konzentrisch um eine elektronendichte Masse angeordnet und bilden einen «Nebenkern». Wir haben in unseren Untersuchungen nie eine solche Struktur feststellen können.

Die Arbeit von MILDER & DEANE (1967) über *T. conorhini* deckt sich wiederum mit unseren Befunden. Die Autoren betonen, daß in den epimastigoten Formen dieser Trypanosomenart das ER relativ wenig entwickelt ist und hauptsächlich aus glatten Membranen besteht, welche verschieden große Vesikeln begrenzen.

Golgi-Komplex

Über die Funktion des Golgi-Komplexes in Protozoen ist recht wenig bekannt. Vielleicht spielt er wie bei Metazoenzellen eine Rolle bei der Sekretion oder Resorption von Stoffen.

GRIMSTONE (1959) zeigt in einer Arbeit über *Trichonympha* den Zusammenhang zwischen dem «Parabasalkörper» (= Golgi-Komplex) und dem System von granulären cytoplasmatischen Membranen. Er vermutet, daß die Säckchen des Parabasalkörpers von diesen Membranen gebildet werden. Der Golgi-Apparat ist ein dynamisches System, welches im Gleichgewicht mit dem Stoffwechsel der Zelle steht und je nach Bedarf und Aktivität der Zelle auf- oder abgebaut wird.

HERBERT (1965) untersuchte Kulturformen von *T. theileri* und *T. melophagium* und fand vor allem bei wachsenden Trypanosomen mit aktivem Stoffwechsel ein ausgedehntes Golgi-Feld, in alternden Kulturformen hingegen nicht.

Auch bei unseren verschiedenen Entwicklungsformen von *T. cruzi* ist der Golgi-Komplex auffallend unterschiedlich ausgebildet, vermutlich in Abhängigkeit vom Metabolismus der Zellen. In den Stadien aus dem Wanzendarm variiert die Zahl der Zisternen und Bläschen beträchtlich. Das Milieu unterliegt hier wahrscheinlich starken Schwankungen (Temperatur, Nährstoffgehalt, pH, O_2 respektive CO_2 conc.), so daß empfindliche Organellen wie Golgi-Komplex, cytoplasmatische Membranen und Mitochondrien ständig im Umbau begriffen sind. Im Warmblüter hingegen ist der Parasit keinen starken Milieuschwankungen ausgesetzt. Die Blutformen weisen immer einen gleichmäßig ausgebildeten, aus einer größeren Zahl von Zisternen bestehenden Golgi-Komplex auf.

In der Einführung haben wir uns gefragt, ob die Kenntnis der Ultrastruktur uns vielleicht ermöglichen wird, etwas über den Entwicklungsverlauf der verschiedenen Formen auszusagen. Zusammenfassend können wir feststellen, daß strukturelle Unterschiede vor allem im Kinetoplasten (Menge und Anordnung der DNS) und in der Ausbildung des ER (rauhe oder glatte Form) zu beobachten sind. Danach beurteilt, zeigen einige sphaeromastigote Formen Merkmale, die sie als Übergangsstadien zwischen der epimastigoten und der trypomastigoten Form kennzeichnen: kugelförmiger Kinetoplast mit mehreren Schichten DNS-Struktur, Mitochondrien mit gut entwickelter Innenstruktur, viele Ribosomen im Cytoplasma, eventuell Bildung von granulären cytoplasmatischen Membranen.

Was die Verteilung der anderen Zellorganellen betrifft, so haben unsere Untersuchungen gezeigt, daß schon innerhalb einer Entwicklungsform beträchtliche Variationen möglich sind, denn die Ausbildung vieler Organellen ist vom Milieu, vom Alter der Zellen und vom Metabolismus abhängig. Das Material, das für die elektronenmikroskopischen Präparate aus dem Wanzendarm gewonnen wird, ist in dieser Hinsicht sehr heterogen. Die relativ geringen Unterschiede zwischen den drei Formen gestatten daher keine endgültige Aussage.

Man muß sich auch immer bewußt bleiben, daß in der Elektronenmikroskopie mit fixierten Objekten gearbeitet wird. Ein dynamischer Prozeß wie die Umwandlung und Neuorganisation einer Trypanosomenzelle läßt sich nicht allein anhand fixierter Dünnschnittpräparate festlegen. Aus diesem Grund sollen nun noch einige Experimente angeführt werden, in denen die Entwicklung einzelner Formen in Einzell-Kulturen untersucht wurde.

IV. Versuche mit Einzell-Kulturen in vivo und in vitro

A. Arbeitsmethoden

1. Anordnung der Versuche

Bei der Diskussion des zweiten Kapitels dieser Arbeit sind wir zur Ansicht gekommen, daß die sphaeromastigoten Formen Übergangsstadien zur epimastigoten oder zur trypomastigoten Form sein könnten. Aus dem vorangegangenen Kapitel über die Ultrastruktur der Entwicklungsformen ist kein eindeutiger Beweis für oder gegen diese Hypothese hervorgegangen. Deshalb wollen wir nun noch versuchen, dem Problem von einer anderen Seite her etwas näher zu kommen.

In diesen Experimenten geht es darum, isolierte epimastigote, trypomastigote und sphaeromastigote Formen in Einzell-Kulturen im Wanzendarm und in hängenden Tropfen zu züchten und dort ihre weitere Entwicklung zu verfolgen. Erwartet wird im günstigsten Fall Wachstum, Vermehrung und eventuell Umwandlung bei der sphaeromastigoten und der epimastigoten Form. Die metacyclischen Trypanosomen aber, die sich nie teilen und sich im Wanzendarm auch nicht mehr verändern, dienten uns zu Kontrollbeobachtungen.