Zeitschrift:	Acta Tropica
Herausgeber:	Schweizerisches Tropeninstitut (Basel)
Band:	31 (1974)
Heft:	3
Artikel:	Ultrastruktur und Zyklus von "Herpetomonas muscarum", "Herpetomonas mirabilis" und "Crithidia luciliae" in "Chrysomyia chloropyga"
Autor:	Brun, Reto
Kapitel:	IV: Elektronenmikroskopische Resultate
DOI:	https://doi.org/10.5169/seals-311961

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. <u>Mehr erfahren</u>

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. <u>En savoir plus</u>

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. <u>Find out more</u>

Download PDF: 20.08.2025

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

kara bei 69,0% in der Rektalampulle. Da in Tororo nur der Enddarm auf C. luciliae untersucht wurde, sich diese Flagellaten aber vor allem in der Rektalampulle entwickeln, ist der Wert für Tororo sicher zu klein. Die Flagellaten sind choanomastigot und mit der Geißel am Darmepithel angeheftet oder frei im Lumen des Enddarms resp. der Rektalampulle. In der PR sind sie nie anzutreffen. C. luciliae weist eine Länge von 7–12 μ auf, eine Breite von 3–5 μ . Die freien Formen sind etwas länger, dafür weniger breit als die angehefteten. Der Kern liegt zwischen der Zellmitte und dem Zellende, der Kinetoplast kurz vor dem Kern oder daneben, aber nie hinter demselben. Die Geißel zieht sich exzentrisch durch ein breites Reservoir. Teilungen konnten beobachtet werden.

Neben diesen drei häufigsten Flagellatenarten wurden noch zwei weitere gefunden, die aber in dieser Arbeit nicht berücksichtigt werden können. Bei ca. $12^{0}/_{0}$ der sezierten Fliegen in Tororo waren im exoperitrophen Raum des Mitteldarms kleine promastigote Formen in sehr großer Zahl anzutreffen. Sie konnten nicht genau bestimmt werden, gehören aber wohl zur Gattung *Leptomonas*. Einige Male wurde in der PR auch *H. mesnili* (ROUBAUD 1908 b) gefunden. Diese Art ist «*H. mirabilis*» sehr ähnlich, doch etwas kleiner.

Pilze und Bakterien waren im Darm in unterschiedlicher Zahl vorhanden. Bei starken Flagellateninfektionen fehlten die Bakterien oder waren nur in geringer Zahl anzutreffen.

IV. Elektronenmikroskopische Resultate

1. Herpetomonas muscarum

a. Promastigote Form aus Mitteldarm endoperitroph

Die promastigoten Formen liegen im Mitteldarm immer innerhalb der peritrophen Membran (Abb. 1). Bei einer hohen Flagellatendichte richten sie sich parallel zur Längsachse des Darmes. Dabei sind die Flagellaten immer frei im Lumen der peritrophen Membran und nie mit der Geißel angeheftet.

Das Cytoplasma und die Geißel der promastigoten Form wird von einer 'unit membrane', der Pellicula, begrenzt. Ungefähr 100 Å unter der Pellicula verlaufen die regelmäßig angeordneten Pellicula Tubuli ('subpellicular microtubules': ANDERSON & ELLIS 1965; 'subpellicle striations': MEYER & PORTER 1954) (Abb. 11). Sie weisen einen Durchmesser von 200–270 Å auf und sind durch feine Membranen verbunden (FUGE 1968). Der Abstand der einzelnen Tubuli liegt zwischen 150 und 300 Å. Ihre Struktur und Anordnung wurde von ANGELOPOULOS (1970) an isolierten Zellhüllen studiert. Unterhalb dieser 'pellicular tubules' liegen manchmal noch vereinzelte Tubuli (Abb. 11); diese liegen immer zwischen zwei Pellicula Tubuli. Bei der Einstülpung der Zellmembran zur Geißelbasis fehlen die Tubuli, bis auf zwei bis vier untereinander verbundene Tubuli, die dem Reservoir bis auf die Höhe des Basalkörpers der Geißel folgen (Abb. 4 b-f). Sie liegen etwa 250 Å vom Reservoir entfernt und haben unter sich einen kleineren Abstand als die übrigen Pellicula Tubuli. Die von TAYLOR & GODFREY (1969) beschriebene 'subpellicular organelle' konnte nie gesehen werden.

Der Kern liegt in der Mitte der Zelle und ist meist länglich, oft unregelmäßig gelappt (Abb. 3). Der kleinere Durchmesser liegt um 1 μ , der größere zwischen 1,5 und 3,0 μ . Das Kernplasma wird von zwei Membranen begrenzt, die ca. 200 Å auseinanderliegen und die perinucleäre Zisterne bilden. Kernporen sind nur spärlich anzutreffen. Das leicht granuläre und nicht sehr elektronendichte Kernplasma wird durchzogen von elektronendichtem Heterochromatin, 'chromatin-like material': VICKERMAN & PRESTON (1970) (Abb. 3), das oft der inneren Kernmembran entlang liegt. Das Endosom liegt in der Mitte des Kerns und weist einen Durchmesser von 0,35–0,80 μ auf.

Das Flagellum verläuft zum größtenteil frei, doch für $3-5 \mu$ im Reservoir, einer Einstülpung der Pellicula ins Zellinnere. Die freie Geißel enthält innerhalb der Geißelmembran die 9+2-Fibrillenstruktur sowie die 'intraflagellar structure' (IFS: ANDERSON & ELLIS 1965; FUGE 1969). Die Fibrillenstruktur besteht aus zwei zentralen sowie aus neun peripheren Fibrillen, die aus den Subfibrillen A und B zusammengesetzt sind. Die IFS ist in der freien Geißel als Gitterstruktur neben dem Axonem vorhanden. Sie besteht aus Filamenten, die in verschiedenen Ebenen angeordnet sind. Beim Verlauf der Geißel im Reservoir ist die IFS rudimentär vorhanden und im Querschnitt als dunkler Punkt oder als schwach entwickelte Struktur zu erkennen (Abb. 4f).

Als Basalkörper bezeichnen wir den Beginn der 9+2-Fibrillenstruktur, die unmittelbar vor dem Kinetoplasten liegt. Er wird begrenzt durch zwei Septen, die sich von den peripheren Fibrillen nach dem Zentrum des Basalkörpers erstrecken. Das hintere Septum ist ringförmig und oft schwer zu erkennen. Das vordere Septum ist gebogen und wird von den zentralen Fibrillen durchbrochen, die kurz dahinter in der Basalplatte enden (Abb. 2, 4 c, 8). Die peripheren Fibrillen teilen sich posterior vom hinteren Septum in drei Subfibrillen und bilden so die 'triplets'. Im Querschnitt sind sie leicht spiralig angeordnet (Abb. 4 a). Die Geißelmembran geht auf der Höhe des Basalkörpers in die Reservoirmembran über. Der Raum zwischen dem Flagellum und der eingestülpten Pellicula wird als Reservoir bezeichnet (Abb. 2). Es wird bei den Trypanosomen als Aufnahmeort für Nahrungsstoffe angesehen. Diese Aufnahme kann durch Pinocytose durch die Reservoirmembran ins Cytoplasma erfolgen (GEIGY et al. 1970; STEIGER 1973). Eine solche Pinocytose konnte bei *H. muscarum* nie beobachtet werden. Der Feinbau von Trypanosomengeißeln wurde von KLEIN-SCHMIDT & SCHLEICH (1951) untersucht.

Unmittelbar hinter dem Basalkörper liegt der Kinetoplast. Er stellt einen speziellen Teil des Mitochondriums dar mit einer Konzentration von mitochondrialer DNS (MUEHLPFORDT 1963, 1964; STEINERT 1964). Er wird begrenzt durch zwei Mitochondriumsmembranen. Die DNS liegt in Längsfibrillen vor, die einen stäbchen- bis birnenförmigen 'kinetonucleus' (INOKI et al. 1971) bilden (Abb. 2, 5–8). Die DNS-Fibrillen sind an zwei 'basement plates' (INOKI et al. 1971) befestigt und verlaufen longitudinal, wobei sie untereinander vernetzt erscheinen (Abb. 5). Die vordere 'basement plate' ist immer größer als die hintere, da beim Anschwellen des Kinetoplasten vor allem die vordere Platte an Größe zunimmt. Die Länge der DNS-Fibrillen beträgt 1,56 $\pm 0,03 \mu$, die Breite kurz hinter der vorderen 'basement plate' 0,67– 1,30 μ (die größte Breite wird kurz vor der Kinetoplastteilung erreicht). Zwischen der DNS und der Doppelmembran des Mitochondriums liegt die Mitochondriumsmatrix mit vereinzelten, kurzen Cristae.

Die Teilung des Kinetoplasten ist eine Längsteilung. Die Verdoppelung des Flagellums erfolgt jeweils kurz nach einer abgeschlossenen Zellteilung (Fig. 1, 2), so daß die Zelle im Ruhestadium zwischen zwei Teilungen bereits zweigeißlig vorliegt. Vor der Teilung schwillt der Kinetoplast am Vorderpol an; die vordere 'basement plate' wird vergrößert (Abb. 6). Hier setzt auch die Teilung der DNS ein. Die vordere 'basement plate' teilt sich, danach werden die DNS-Fibrillen durchgespalten (Abb. 7, 8). Dieses Durchtrennen erfolgt nicht symmetrisch, sondern einseitig (Abb. 9 b,c). Dies zeigt eine Reihe von Querschnitten (Abb. 9 a–f). Das den 'kinetonucleus' umgebende Mitochondrium wird erst nach beendeter Teilung der DNS durchgetrennt.

Das Mitochondrium erstreckt sich vor allem im Zellteil hinter dem Kinctoplasten. Es ist leicht verzweigt und netzförmig entwickelt; die einzelnen Äste verlaufen meist der Pellicula entlang. Die Matrix ist mäßig elektronendicht und weist regelmäßig tubuläre Cristae auf. Vom Kinetoplasten aus erstrecken sich ein oder zwei zum Teil verzweigte Mitochondriumsäste neben dem Reservoir gegen den Vorderpol der Zelle. Die einzelnen Äste haben einen Durchmesser von $0,1-0,3 \mu$.

Der Golgi-Apparat oder Golgi-Komplex ('parabasal body': GRIM-STONE 1959) liegt zwischen dem Kern und dem Kinetoplasten. Er besteht aus übereinandergeschichteten Zisternen, die sich peripher etwas erweitern und Vesikel abschnüren (Abb. 12). Eine Zisterne erscheint im Querschnitt als ein Kanälchen von 150–200 Å mit einer Länge von $0,65-1,10 \mu$. Die Zahl der Zisternen liegt zwischen 6 und 10. Die Zahl der abgeschnürten Golgi-Vesikel ist unterschiedlich, ebenso die

231

Größe der Vesikel; die kleinsten messen ca. 400 Å, die größten etwa 0,4 μ . Durch Invagination können Vesikel mit einer Doppelmembran entstehen (Abb. 10). Vereinzelte 'multivesiculate bodies' (mvb) liegen manchmal in der Nähe des Golgi-Apparates. Sie scheinen in Lysosomen (Abb. 10 inset) überzugehen. Das Endoplasmatische Reticulum (ER) ist nur schwach entwickelt und erstreckt sich über den gesamten Bereich der Zelle. Das rauhe oder granuläre ER (rER) ist im Querschnitt als mit Ribosomen besetzte Schläuche von ca. 300 Å Durchmesser zu finden. Es bildet manchmal über 1 μ lange Zisternen, die oft der Pellicula entlang laufen. Das glatte oder agranuläre ER (sER) tritt als Schläuche und Bläschen auf.

Beide Typen des ER kommen im Bereich des Golgi-Apparates, also zwischen Kern und Kinetoplast, etwas häufiger vor als im übrigen Cytoplasma. Diese Zone mit dem Golgi-Apparat, dem ER und lysosomalen Strukturen wurde als GERL beschrieben (Novikoff et al. 1971).

Lipideinschlüsse (Abb. 13) sind über das ganze Cytoplasma verteilt. Es sind membranlose, kugelige Tröpfchen von $0,15-0,35 \mu$ mit einer mäßigen Elektronendichte. Oft sind sie ausgewaschen, so daß sie im Dünnschnitt als runde Löcher hervortreten.

'Peroxisome-like organelles' (VICKERMAN 1969 a), identisch mit 'dense bodies' (VICKERMAN 1971) und 'microbodies' (RHODIN 1954), sind ein sehr häufiger Bestandteil des Cytoplasmas. Sie kommen in der ganzen Zelle vor, sind aber in der GERL-Zone häufiger anzutreffen. Ihre Form ist kugelig bis länglich bei einem Durchmesser von 0,25– 0,60 μ (Abb. 9 e, 13, 14). Sie sind von einer Membran begrenzt und enthalten eine fein granulierte Matrix, die manchmal einen kristallförmigen Innenkörper enthält (Abb. 14). Sofern die einfache Membran nicht sicher festgestellt werden kann, ist es nicht leicht, die 'peroxisomelike organelles' von Lipidvakuolen oder vom Mitochondrium zu unterscheiden.

Lysosomen (Abb. 10 inset) sind nur selten vorhanden, aber immer in der Nähe des Golgi-Apparates; nach dem Kontrastieren mit Bleicitrat weisen sie oft einen flockigen Inhalt auf.

Freie oder zu Gruppen formierte Ribosomen sind regelmäßig im ganzen Cytoplasma verteilt, ebenso dem rER entlang.

Im hinteren Teil des Flagellaten sind oft Symbionten anzutreffen. Dabei handelt es sich um Bakterien oder rickettsienähnliche Organismen von stäbchenförmiger Gestalt mit einer Länge von ca. 1 μ und einem Durchmesser von 0,25–0,50 μ . Sie liegen meist in einer Gruppe von 3–6 Organismen zusammen (Abb. 16, 19).

Die bakterienähnlichen Mikroorganismen können in zwei Gruppen unterteilt werden, die normalerweise nicht in derselben Fliege vorkommen. Dabei kann aber die Möglichkeit nicht ausgeschlossen werden, daß es sich um dieselbe Art handelt. Die erste Gruppe von Mikroorganismen weist eine ca. 140 Å dicke Zellwand auf. Zwei Schichten von Doppelmembranen werden nacheinander darum gebildet, wobei sich die innere in Tubuli unterteilt (Abb. 17, 19). Diese Membranen sind mit sER zu vergleichen und werden vermutlich vom Cytoplasma des Flagellaten gebildet. Neben glatten Membranen können auch Mitochondriumsäste den Mikroorganismus umhüllen (Abb. 18). Die zweite Gruppe von Mikroorganismen weist keine Zellwand auf und ist von einem lytischen Hof umgeben (Abb. 15, 16). Die einzelnen Symbionten sind durch ER oder Teile des Mitochondriums verbunden. Ob es sich dabei um eine bloße Anlagerung handelt, oder ob die Membranen ineinander übergehen, konnte nicht eindeutig festgestellt werden.

Zellteilungen sind sehr häufig. Im Anschluß an eine abgeschlossene Teilung wird ein neuer Basalkörper aufgebaut und wächst zur neuen Geißel aus. Nach dieser Verdoppelung der Geißel tritt eine Ruhepause ein. Zu Beginn der nächsten Teilung wird die Zelle verbreitert und der Kinetoplast schwillt etwas an. Der Kern teilt sich, wobei die Spindelfasern nicht so deutlich hervortreten wie bei der cercoplasmatischen Form von «*H. mirabilis*». Die Teilung des Kinetoplasten kann vor oder nach der Kernteilung erfolgen. Dabei wird das Mitochondrium wahrscheinlich nicht symmetrisch geteilt, sondern zufällig und durch späteres Auswachsen auf die endgültige Größe erweitert. Schließlich trennt sich die Zelle beim Reservoir beginnend längs durch.

b. Kulturform

Das Kultivieren von *H. muscarum* führt zu einer von der promastigoten Mitteldarmform stark verschiedenen Form. Diese zeigt gegenüber der Fliegenform eine andere Ultrastruktur, aber auch andere Dimensionen der Zelle sowie eine neue Kern-Kinetoplast Relation. Der Kinetoplast kann vor oder hinter dem Kern liegen; von promastigoten bis opisthomastigoten Formen sind alle Zwischenstadien vorhanden. Dies wurde schon von CLARK (1959) beschrieben. Die Zelle ist gegenüber der Fliegenform stark verkürzt; die Länge liegt zwischen 10 und 15 μ (durchschnittlich 12 μ), die Breite um 2 μ (Fig. 3, 3). Das Vorderund Hinterende der Zelle ist abgerundet, besonders bei den opisthomastigoten Formen, die etwas kürzer sind als die promastigoten Formen.

Der oval bis längliche Kern liegt in der Mitte der Zelle; seine Länge beträgt 1,5–3,0 μ , die Breite 0,7–1,0 μ (Abb. 20–24). Die Größe und der innere Aufbau stimmen mit der Mitteldarmform überein, doch ist der Kern der Kulturform weniger verzweigt und erscheint deshalb runder.

Je nach der Lage des Kinetoplasten verläuft die Geißel in einem mehr oder weniger langen Reservoir. Liegt der Kinetoplast am hinteren Zellende (opisthomastigote Form), so zieht sich die Geißel im engen Reservoir am Kern vorbei zum Vorderende, wo sie die Zelle verläßt. Flagellum und Basalkörper zeigen bis auf die 'intraflagellar structure' den bekannten Aufbau. Bei der Fliegenform liegt die IFS in der freien Geißel neben dem Axonem innerhalb der Geißelmembran; beim Verlauf im Reservoir ist sie als Anlage vorhanden. Bei der Kulturform hingegen wird in der freien Geißel keine IFS gebildet. An ihrer Stelle liegt im Querschnitt ein dunkler Punkt (Abb. 20).

Der Kinetoplast unterscheidet sich wesentlich vom Kinetoplasten der Fliegenform. Die DNS bildet eine Scheibe (flacher Zylinder), die in einem oft stark erweiterten Mitochondriumsteil liegt. Die leicht ovale Scheibe hat einen Durchmesser von $0,42-1,25 \mu$ und eine ziemlich konstante Höhe von $0,25 \mu$ (Abb. 24, 26, 28).

Mikrodensitometrische Untersuchungen der DNS nach Ultrazentrifugation in einem CsCl-Gradienten ergaben für die Kinetoplast-DNS eine Dichte von 1,698 g/ml und für die Kern-DNS 1,719 g/ml. Die DNS des Kinetoplasten besteht aus 'circles' von $0,78 \mu$ (dieses Resultat wurde in Zusammenarbeit mit G. Riou und E. Delain erhalten). Der Kinetoplast setzt sich aus solchen 'circles' zusammen, die parallel zur Längsachse der Zelle angeordnet sind. Nimmt man an, daß die 'circles' einem Kreis entsprechen, so kommt man aufgrund der Länge von 0,78 μ rechnerisch auf einen Durchmesser von 0,25 μ . Dieser Wert entspricht genau der Höhe der DNS-Scheibe. Man kann daraus schließen, daß der Kinetoplast aus mehreren Reihen dieser 'circles' aufgebaut ist, wie das für Trypanosoma cruzi (BRACK 1968; DELAIN & RIOU 1969) beschrieben worden ist. In einem Schnitt parallel zur Längsachse der Zelle erscheint die DNS als Rechteck (Abb. 24), im Querschnitt als eine Scheibe (Abb. 25). Die Doppelschleifen liegen parallel zur Längsachse des Flagellaten (Abb. 23). Auf der dem Basalkörper zugewandten Seite liegt ca. 150 Å über der DNS-Struktur eine 250 Å dicke Platte von elektronendichtem Material (Abb. 24), die nur schwach sichtbar ist. Die DNS-Struktur des Kinetoplasten liegt oft in einem erweiterten Mitochondriumsfeld, das sich posterior und/oder lateral ausdehnt (Abb. 20, 24, 26). Dieses Mitochondriumsfeld weist wenig tubuläre Cristae und vereinzelte Tubuli auf; die Matrix ist nicht sehr elektronendicht. Gegen die Geißelbasis ist der Abstand von den DNS-Fibrillen zur Doppelmembran des Mitochondriums ziemlich konstant und beträgt $0,1 \mu$.

Das restliche Mitochondrium besteht aus einzelnen Ästen, die sich vom Kinetoplasten aus in beide Richtungen der Längsachse ausdehnen. Sie weisen tubuläre Cristae auf, die dichter angeordnet sind als im Kinetoplastbereich. Zwischen Kinetoplast und Kern findet man manchmal einen stark erweiterten Mitochondriumsteil, der von Membranen durchsetzt ist (Abb. 26, 33).

Der Golgi-Apparat liegt neben dem Kinetoplasten oder etwas davor auf der Höhe des Basalkörpers. Die 5-8 parallel zur Längsachse der Zelle verlaufenden Zisternen sind $0,75-1,30 \mu$ lang (Abb. 30, 33, 34). In der Nähe liegen abgeschnürte Golgi-Vesikel von 300-1000 Å Durchmesser (Abb. 30, 34). Durch Invagination können Vesikel entstehen, die von einer Doppelmembran umgeben sind. Neben den Golgi-Vesikeln findet man regelmäßig 'multivesiculate bodies' (Abb. 32). Diese von einer Membran umgebenen kugeligen Körper von $0,20-0,35 \mu$ enthalten Bläschen, die in der Größe den Golgi-Vesikeln entsprechen.

Das rER erstreckt sich über das ganze Cytoplasma und erscheint im Dünnschnitt als mit Ribosomen besetzte, oft über 1μ lange Kanäle. Peripher der Pellicula entlang trifft man längere Kanäle als im zentralen Cytoplasma.

Das sER ist besser entwickelt als das rER und setzt sich aus kurzen Tubuli und Bläschen von verschiedener Größe zusammen. Diese zeigen keine erkennbare Orientierung und sind im ganzen Cytoplasma vorhanden, jedoch in vermehrtem Maße in der GERL-Zone (Abb. 34).

Die Lipideinschlüsse sind regelmäßig in der ganzen Zelle verteilt (Abb. 34). Die kugeligen Tröpfchen messen $0,15-0,65 \mu$ im Durchmesser. Sie sind nicht von einer Membran begrenzt, zeigen aber nach Osmiumfixierung oft einen verstärkten Kontrast an der Peripherie, was mit einer Membran verwechselt werden könnte (FAWCETT 1966).

Die 'peroxisome-like organelles' sind membranbegrenzte, kugelige Einschlüsse im Cytoplasma. Ihre Größe liegt zwischen 0,2 und 0,5 μ (Abb. 26, 31, 32). Ihr Inhalt erscheint fein granulär, manchmal eher flockig. Sie sind über die ganze Zelle verteilt. Membraneinschlüsse, wie sie bei der langen Blutform von *T. brucei* (STEIGER 1973) vorkommen, konnten nie beobachtet werden.

Bei der Teilung wird als erster Schritt die Geißel verdoppelt. Die Kulturform liegt im Gegensatz zur Mitteldarmform in der Ruhephase zwischen zwei Teilungen eingeißlig vor. Der Kinetoplast verbreitert sich, wobei die DNS-Scheibe einen maximalen Durchmesser von $1,30 \,\mu$ erreichen kann. Dann teilt sich der Kern quer zur Längsachse der Zelle. Nach der Teilung des Kerns wird die DNS-Scheibe des Kinetoplasten geknickt (Abb. 27) und quer geteilt (Abb. 28), anschließend schnürt sich das Kinetoplast-Mitochondrium durch. Die beiden Kinetoplasten streben auseinander und das Cytoplasma der Zelle teilt sich (Abb. 28, 29).

2. «Herpetomonas mirabilis»

a. Cercoplasmatische Form

Die cercoplasmatischen Formen sind mit der umgeformten Geißel ans Enddarmepithel der PR angeheftet (Abb. 35, 36). Aufgrund der Kern-Kinetoplast Beziehung sind es promastigote Formen; ihr Vorderpol ist aber angeschwollen und das Hinterende stark verlängert (Länge der Zelle bis 150 μ).

Der Kern liegt gewöhnlich im vorderen Zellabschnitt, ca. 5–10 μ vom Vorderpol entfernt. Er ist kugelig bis länglich (größerer Durchmesser 1,2–2,5 μ), bei noch nicht ausgewachsenen Formen langgezogen (3–5 μ) und in der Mitte der Zelle lokalisiert. Das Kernplasma zeigt nur wenig Heterochromatin, das der Kernmembran entlang gelagert ist sowie um das nur schwach erkennbare Endosom. Die Kerne sind oft aktiv, was sich an häufigen Kernteilungen zeigt. Vor der Teilung verschwindet das Heterochromatin und es werden ca. 20 'spindlemicrotubules' sichtbar (Abb. 38). Die meisten liegen im Zentrum des Kerns, doch kommen einzelne auch in der Nähe der Kernmembran vor (Abb. 38). BIANCHI et al. (1969) fanden im Kern von Leishmania tropica 8 parallel laufende Mikrotubuli.

Der Kern verbreitert sich vor der Teilung quer zur Längsachse der Zelle. Die Spindeln verlaufen dabei nur mehr oder weniger parallel (Abb. 40). Der verlängerte Kern schnürt sich in der Mitte durch, während an der Peripherie bereits wieder Heterochromatin auftritt (Abb. 41).

Das Flagellum verläuft max. 3 μ im Reservoir im Innern der Zelle. Eine freie Geißel ist meist nicht vorhanden; sie ist unter Verlust des Axonems und der IFS zu einem Anheftungsapparat umgebaut. Die Geißel verbreitert sich beim Verlassen des Reservoirs zu einer klumpenförmigen Masse, die ans Darmepithel angeheftet ist (Abb. 42). Die Geißelmembran bleibt dabei erhalten und steht auf einer Fläche von $3-4 \mu^2$ mit dem Enddarmepithel in Kontakt. Zwischen Darmepithel und Geißelmembran ist ein Abstand von 200-500 Å. Unter der Geißelmembran liegt eine ca. 100 Å breite, helle Schicht, gefolgt von einer 300-350 Å breiten, elektronendichten Zone (Abb. 42). Von dieser Zone erstrecken sich rechtwinklig Filamente ins Innere der Geißel, die jedoch nur schwach zu erkennen sind. Die Geißel ist durch eine hemidesmosomale Bindung an das Darmepithel angeheftet. Eine ähnliche Anheftung wurde bei C. fasciculata (BROOKER 1971b) im Anopheles-Darm gefunden. Das Innere der zu einem Klumpen erweiterten Geißel besteht aus einer flockigen, amorphen Masse ('intraflagellar area': MOLYNEUX 1969). Die Geißelstrukturen (Axonem und IFS) ragen in diese Masse hinein und enden plötzlich (Abb. 42). Die beiden zentralen Fibrillen bilden an dieser Stelle einen dunklen, knopfartigen Körper (Abb. 43). Am vorderen Teil des Reservoirs verbreitert sich die Geißel, wobei es zu einem Kontakt zwischen der Geißelmembran und der Reservoirmembran kommt. An dieser Stelle werden kurze, ringförmig ums Reservoir verlaufende Desmosomen ausgebildet (Abb. 42). Ähnliche Desmosomen fand BROOKER (1970, 1971b) bei C. fasciculata. Desmosomen treten auch zwischen nebeneinanderliegenden, angehefteten Geißeln auf (Abb. 36). In ihrem Bereich erweitert sich der interzelluläre Spalt auf ca. 300–400 Å, der durch eine Membran unterteilt ist. Beidseitig ca. 100 Å unterhalb der Geißelmembran liegt eine 200–250 Å dicke, elektronendichte Schicht. Dieselben Desmosomen treten auch zwischen angehefteten und freien (normalstrukturierten) Geißeln auf (Abb. 42 inset).

An der Anheftungsstelle der Geißel ans Enddarmepithel sind regelmäßig Pinocytosebläschen zu beobachten (Abb. 42, 44, 45). Invagination der Geißelmembran führt zu kleinen Bläschen, die noch von der unter der Geißelmembran liegenden, elektronendichten Zone umgeben sind (Abb. 42). Diese Pinocytosebläschen nehmen meist noch an Größe zu, wobei die elektronendichte Zone dann verschwindet. Die größeren Bläschen enthalten fast immer lamellen- oder membranartige Strukturen (Abb. 44, 45). Es scheint so, als ob kleinere Bläschen zu größeren verschmelzen würden, was dann zu Blasen von über 1 μ Durchmesser führen kann. Nach dem Ablösen von der Geißelmembran liegen diese Bläschen frei in der 'intraflagellar area'.

Der Kinetoplast liegt im verbreiterten vorderen Zellteil ca. 2–3 μ vom anterioren Pol entfernt. Die DNS bildet eine leicht gekrümmte Scheibe, die konkave Seite gegen den Basalkörper gerichtet (Abb. 46). Zwischen dem Basalkörper und der Mitochondriumsdoppelmembran des Kinetoplasten liegt ein Zwischenraum von 0,1 µ. Die DNS-Scheibe weist eine Dicke von $0.146 \pm 0.005 \,\mu$ auf; sie ist aus vielen Reihen von 'circles' zusammengesetzt (vgl. T. cruzi, BRACK 1968). Im Querschnitt ist sie kreisförmig bis oval mit einem kleineren Durchmesser von ca. 0,8 μ und einem größeren Durchmesser von 0,8–1,6 μ (vereinzelte Werte bis 2,3 µ). Der größte Durchmesser wird vor der Teilung erreicht, wo der Kinetoplast stark in der Breite zunimmt. Auf der konkaven Seite der DNS liegen im Mitochondrium nur sehr wenig tubuläre Cristae, während sie auf der konvexen Seite sehr häufig sind (Abb. 46). Der Mitochondriumsanteil hinter der DNS ist etwas größer als auf der Vorderseite, doch nur selten so ausgedehnt wie bei der Kulturform von H. muscarum. Vor der Kinetoplastteilung wird die DNS-Scheibe auf den doppelten Wert verbreitert. Der Kinetoplast wird geknickt und bildet einen stumpfen Winkel. An dieser Stelle erfolgt die Trennung der DNS, gefolgt von einer Durchschnürung des Kinetoplastmitochondriums.

Das Mitochondrium bildet ein wahrscheinlich zusammenhängendes, stark verzweigtes Netz von einzelnen Ästen, die vorzugsweise der Peripherie entlang laufen. Der Mitochondriumsanteil des Kinetoplasten steht damit in Verbindung. Vor dem Kinetoplasten nimmt das Mitochondrium stark zu und erreicht seine größte Ausdehnung am vorderen Zellpol (Abb. 47). Auf der Höhe des Reservoirs können im Querschnitt bis zu 40 Mitochondriumsäste gezählt werden. Der Mitochondriumsanteil am Cytoplasma liegt in dieser Region nicht selten über $50 \,^{0}/_{0}$, meistens aber über $40 \,^{0}/_{0}$. Hinter dem Kern nimmt die Dichte des Mitochondriums langsam ab. Ins langgezogene, dünne Hinterende der Zelle ziehen sich 1–2 Mitochondriumsäste, die aber vor dem Erreichen des Hinterendes aufhören. Die einzelnen Mitochondrienäste haben einen Durchmesser von ca. $0,2 \,\mu$. In der hellen Matrix liegen mäßig dicht tubuläre Cristae, die keine erkennbare Orientierung aufweisen. Sie sind teilweise bläschenartig bis scheibenförmig ausgebildet, was sich an kreisförmigen Querschnitten der inneren Mitochondriumsmembran äußert (Abb. 47).

Der Golgi-Apparat ist außergewöhnlich stark ausgebildet und dominiert die Zone zwischen Kern und Kinetoplast (Abb. 51). Er liegt oft neben dem Kinetoplasten oder auf der Höhe des Basalkörpers (Abb. 50). Es können zwei Golgi-Apparate vorhanden sein, die nebeneinander oder hintereinander liegen, wobei es sich um eine Teilungsphase handeln könnte. Die 5–9 Zisternen sind gewöhnlich über 1 μ lang, in vereinzelten Fällen sogar bis 3,5 μ . An ihrer Peripherie erweitern sie sich und Vesikel von 0,04 bis 0,12 μ werden abgeschnürt (Abb. 49, 51). Auch von einer Doppelmembran begrenzte Vesikel liegen in der Nähe des Golgi-Apparates (Abb. 49, 51). 'Multivesiculate bodies' sind immer mit der Golgi-Zone assoziiert; sie sind von einer Membran begrenzt und messen 0,15 bis 0,45 μ im Durchmesser. Sie enthalten je nach Größe bis über 100 Bläschen in der Größe der kleinsten Golgi-Vesikel (Abb. 49, 51).

Das ER ist recht gut ausgebildet. Das rER bildet einige längliche Zisternen, die im Schnitt als Kanäle erscheinen (Abb. 49). Das sER überwiegt quantitativ das rER und tritt als Tubuli und Bläschen auf. Es ist in der GERL-Zone stärker konzentriert als im übrigen Zellbereich.

Lipideinschlüsse kommen in der ganzen Zelle in Form von Tröpfchen vor (Abb. 41, 50). Sie sind von kugeliger Gestalt und messen 0,2 bis 0,5 μ im Durchmesser. Sie sind nicht membranbegrenzt und durch die Osmium-Fixierung nur schwach geschwärzt. Zwischen Kern und Kinetoplast sind sie in größerer Zahl vorhanden als im restlichen Cytoplasma.

'Peroxisome-like organelles' (Abb. 49, 50, 51) sind im ganzen Cytoplasma verteilt, am häufigsten aber in der GERL-Zone. Sie sind kugelig bis länglich bei einem Durchmesser von 0,1 bis 0,3 μ . Ihre Matrix ist relativ elektronendicht (stärker osmiophil als Lipideinschlüsse und Mitochondrium); ein kristalliner Innenkörper ist nur selten zu erkennen.

Lysosomen sind selten, treten aber vereinzelt in der GERL-Zone auf. Dabei handelt es sich vermutlich um ehemalige 'multivesiculate bodies', deren Inhalt stärker konzentriert wurde. Vor der Zellteilung wird der Kinetoplast verbreitert, der mehr oder weniger längliche Kern kugelig. Der Vorderpol der Zelle schwillt an, gleichzeitig oder kurz danach teilt sich der Kinetoplast. Schließlich wird die Zelle von der Anheftungsstelle her durchgetrennt. Dabei ist es möglich, daß neu auswachsende Geißeln nicht von der alten Geißel getrennt werden, so daß nach weiteren Teilungen mehrere Axoneme in derselben Geißelmembran liegen können. Die einzelnen Axoneme sind dabei isoliert in der 'intraflagellar area' (Abb. 48). Denselben Vorgang beschrieb MOLYNEUX (1969) bei *T. lewisi* im Rektum von *Nosopsyllus* fasciatus.

b. Opisthomastigote Form

Die opisthomastigoten Formen kommen in der PR neben den cercoplasmatischen Formen vor, sind aber nicht am Enddarm angeheftet. Sie sind frei im Lumen vorhanden, ca. 15 μ lang und s-förmig gewunden. Der Kinetoplast liegt am hinteren Zellende; dort beginnt auch die Geißel, die im langen Reservoir durch die ganze Zelle verläuft. Es ist keine undulierende Membran vorhanden.

Der Kern liegt in der Zellmitte; er ist langgestreckt und zeigt einen ovalen Querschnitt (Abb. 52, 57). Seine Länge beträgt mehrere μ , sein kleinerer Durchmesser 0,4–0,5 μ , sein größerer Durchmesser 0,7–1,3 μ . Nicht selten sind 2 Kerne oder Kernstücke pro Zelle vorhanden (Abb. 57). Diese liegen gewöhnlich hintereinander, sie können sich aber auch etwas überlappen (Abb. 55, 57). Das Kernplasma ist flockig und an der Peripherie mit einer dünnen Schicht Heterochromatin besetzt. Ein Endosom konnte nie beobachtet werden.

Die Geißel hat ihren Ursprung im Basalkörper, der kurz vor dem Kinetoplasten liegt. Sie zieht sich im engen Reservoir durch die ganze Zelle zum Vorderpol, wo sie die Zelle verläßt. Die IFS entsteht kurz nach dem Basalkörper. Sie ist somit bereits im Zellinnern ausgebildet und nicht erst in der freien Geißel. Einzelne Pellicula Tubuli, die dem Reservoir entlang laufen, konnten nicht beobachtet werden.

Der Kinetoplast liegt am posterioren Zellende. Die DNS bildet drei übereinanderliegende Schichten von 'circles' (Abb. 56). Jede Schicht ist $0,15-0,17 \mu$ dick und weist einen Durchmesser von $0,6-0,9 \mu$ auf; zusammen ergeben sie einen kugeligen Kinetoplasten. In seiner Längsachse mißt er $0,5 \mu$ bei einer Breite von $0,65-1,00 \mu$. Im Kinetoplastmitochondrium sind vor allem auf der posterioren Seite tubuläre Cristae ausgebildet (Abb. 56). BRACK (1968), MEYER (1968), SANABRIA (1970) fanden bei *T. cruzi* einen analog aufgebauten Kinetoplasten.

Das Mitochondrium bildet ein leicht verzweigtes Netz von einzelnen Ästen, das beim Kinetoplasten beginnt. Die einzelnen Äste haben einen Durchmesser von ca. $0,2 \mu$ und erstrecken sich vom posterioren Ende bis zur Austrittsstelle der Geißel. Pro Querschnitt sind jeweils zwei bis mehrere Äste getroffen. Die innere Membran bildet zwei Cristae-Typen; am häufigsten findet man tubuläre Cristae, daneben etwas seltener kugelige Membraneinstülpungen. Die fein granuläre Matrix ist in allen Zellabschnitten stark mit diesen beiden Cristae-Typen besetzt.

Der Golgi-Apparat ist schwach entwickelt; er besteht aus 3–4 Zisternen (ca. 0,5 μ lang) und einigen Golgi-Vesikeln (Abb. 52, 54). Er liegt gewöhnlich zwischen Kinetoplast und Kern, kann sich aber auch auf der Höhe des Kerns befinden.

Das ER ist nur schwach ausgebildet. Das rER zeigt sich im Ultradünnschnitt als kurze, mit Ribosomen besetzte Kanälchen. Das sER bildet Schläuche und Bläschen, die aber nur spärlich vorhanden sind. Eine Konzentration auf ein bestimmtes Gebiet der Zelle ist nicht zu erkennen.

Lipideinschlüsse sind regelmäßig im Cytoplasma verteilt (Abb. 52). Ihre Größe liegt zwischen 0,20 und 0,35 μ . Sie sind wenig osmiophil, besitzen aber eine elektronendichtere Zone der Peripherie entlang.

Die 'perioxisome-like organelles' sind häufiger im Cytoplasma anzutreffen als die Lipideinschlüsse. Sie sind kugelig bis länglich mit einem kleineren Durchmesser von 0,1 bis 0,2 μ (Abb. 52, 55). Sie erscheinen aufgrund ihrer kleineren Elektronendurchlässigkeit dunkler als die Lipide. Ein kristallförmiger Innenkörper ist nur ausnahmsweise zu erkennen.

Teilungsvorgänge konnten nie beobachtet werden, ebensowenig das Vorhandensein von zwei Geißeln.

c. Übergangsformen

Sowohl die cercoplasmatischen wie auch die opisthomastigoten Formen entwickeln sich aus kleinen promastigoten Formen (Fig. 2, 6 + 7). Diese sind ca. 15 μ lang, besitzen einen langgestreckten Kern und einen Kinetoplasten wie die opisthomastigote Form (dreischichtig, kugelig) (Abb. 58). Ihre Ultrastruktur entspricht weitgehend derjenigen der opisthomastigoten Form. Einzig das ER, der Golgi-Apparat und die Lipideinschlüsse sind besser entwickelt; zudem können sich diese Formen teilen.

Die Transformation dieser promastigoten Ausgangsformen zu den opisthomastigoten Formen besteht hauptsächlich in einer Kinetoplastverschiebung vom vorderen zum hinteren Zellpol (Abb. 58). Dabei folgt die Geißel dem Kinetoplasten, ebenso der Golgi-Apparat. Die Zelle verliert ihre gestreckte Form und wird leicht s-förmig spiralisiert. Die Membransysteme des Cytoplasmas werden zurückgebildet, zudem geht die Teilungsfähigkeit verloren.

Die Entwicklung der promastigoten Ausgangsformen zu den cercoplasmatischen Formen ist mit großen ultrastrukturellen Veränderungen verbunden. Der langgestreckte Kern erfährt erst bei älteren cercoplasmatischen Formen oder vor Teilungen eine Veränderung, indem er sich abrundet. Mit zunehmender Größe der Zelle verschiebt er sich in den vordersten Zellteil, der in der Breite zunimmt. Die Geißel, die mit dem Enddarmepithel der PR in Kontakt kommt, wird umgebaut. Zuerst wird die Geißelmembran an die Cuticula des Darmes angeheftet, wobei eine hemidesmosomale Bindung zustandekommt. Die Fibrillenstruktur des Axonems wird von der Spitze her abgebaut. Dadurch wird immer mehr Geißelmembran frei für die Schaffung einer noch größeren Anheftungsfläche. Dieser Vorgang führt dazu, daß nach einer gewissen Zeit die ganze PR vollständig mit Geißeln besetzt ist, die lückenlos aneinander anschließen. Auch der Kinetoplast erfährt Veränderungen, indem die DNS-Fibrillen umgebaut werden. Der kugelige, dreischichtige DNS-Körper geht in eine einschichtige Scheibe über. Dies vollzieht sich folgendermaßen: die oberste, dem Basalkörper zugewandte Schicht von 'circles' beginnt auf einer Seite auszuwachsen (Abb. 59). Die dazu benötigten 'circles' werden den beiden unteren Schichten entnommen. Dadurch wächst die oberste Schicht in die Breite, während die beiden unteren mehr und mehr zusammenschmelzen (Abb. 60). Über diesen Umbau im einzelnen kann nichts ausgesagt werden. Am Ende dieses Vorgangs ist die DNS der drei Schichten des kugeligen Kinetoplasten in der obersten Schicht vereinigt. Eine Neusynthese von DNS ist dabei wohl nicht nötig, da das Volumen der DNS während dieses Umbaus ungefähr konstant bleibt. Das Mitochondrium ist in der opisthomastigoten Form nur mäßig entwickelt, ebenso bei der promastigoten Ausgangsform. Beim Übergang zur cercoplasmatischen Form wächst das Mitochondrium außergewöhnlich stark. Vor dem Kinetoplasten, im Gebiet um das Reservoir, ist dieses Wachstum am auffälligsten. Auch der Golgi-Apparat erfährt eine Vergrößerung, vor allem in Richtung der Längsachse der Zelle. Zwischen Kinetoplast und Kern kommt es zur Ausbildung einer deutlichen GERL-Zone mit Golgi-Vesikeln, 'multivesiculate bodies' und sER. All diese Zellelemente sind in der Ausgangsform nur spärlich vorhanden und werden bei der Umwandlung zu den cercoplasmatischen Formen stark vermehrt.

3. Crithidia luciliae-Kultur

Die Kulturformen von C. luciliae unterscheiden sich kaum von den Enddarmformen. Sie zeigen eine Tendenz, sich mit der Geißel an Partikel oder tote Formen anzuheften. Es ist auch möglich, daß sich mehrere Flagellaten mit ihrer Geißel aneinanderheften, was zur Entstehung von Rosetten führt (Abb, 61). Die Formen sind nach der Terminologie von HOARE & WALLACE (1966) choanomastigot. Die Länge der Zelle liegt zwischen 4,5 und 8,0 μ , die Breite zwischen 2,5 und 4,0 μ . Angeheftete, festsitzende Formen sind gedrungen, fast kugelig, während die freien Formen länger und schmäler sind.

Der Kern liegt im hinteren Zellabschnitt, in unmittelbarer Nähe des Kinetoplasten (Abb. 61, 63). Er ist kugelig bis oval mit einem größeren Durchmesser von $1,5-1,8 \mu$. Das Kernplasma des heterochromatischen Kerns enthält zentral das Endosom, einzelne zentrale, aber vor allem der Kernmembran entlang liegende Anteile des Heterochromatins (Abb. 62, 63).

Die Geißel beginnt im Basalkörper, der kurz vor dem Kinetoplasten liegt und erstreckt sich durch ein breites Reservoir. Die Geißel enthält das Axonem und eine rudimentäre IFS, die nie voll ausgebildet vorliegt (Abb. 65). Am Vorderende der Zelle verengt sich das Reservoir, gleichzeitig schwillt die Geißel an. An dieser Stelle werden zwischen der Geißelmembran und der Reservoirmembran Desmosomen gebildet (Abb. 66). Eine entsprechende Desmosomenbildung wurde bei C. fasciculata beschrieben (BROOKER 1970, 1971b). Die Geißel kann sich an feste Partikel im Kulturmedium, an tote Formen oder an andere Geißeln anheften. Dies führt zu Rosettenbildungen, indem sich mehrere Flagellaten mit ihren Geißeln aneinanderheften (Abb. 61). Wenn ein solcher Kontakt zustande kommt, wird die freie Geißel wie bei den cercoplasmatischen Formen von «H. mirabilis» zu einem Anheftungsapparat umgebaut (Abb. 66). An der Kontaktstelle liegt unterhalb der Geißelmembran eine helle Schicht von ca. 100 Å, gefolgt von einer elektronendichteren Schicht von ca. 200 Å. Von dieser Schicht aus erstrecken sich Filamente ins Innere der Geißel.

An der Basis des stark erweiterten Reservoirs liegt der scheibenförmige Kinetoplast (Abb. 61, 63). Die DNS-Struktur hat einen Durchmesser von 0,7 bis 1,0 μ und eine Dicke von 0,14 μ . Sie besteht aus mehreren Reihen von 'circles', die im Mitochondrium eingebettet liegen. Über der DNS-Scheibe ist eine diffuse Platte von elektronendichtem Material zu erkennen (vgl. Kulturform von *H. muscarum*). Vor der Teilung verbreitert sich die DNS-Scheibe auf ca. 1 μ und teilt sich quer durch (Abb. 68). Die Mitochondriumsmatrix des Kinetoplasten enthält nur wenig tubuläre Cristae, die immer auf der posterioren Seite der DNS liegen, wo der Mitochondriumsanteil auch größer ist.

Das Mitochondrium bildet ein verzweigtes Netz von Ästen, in das auch der Kinetoplast eingebaut ist. Es ist recht dicht, in einzelnen Fällen sogar ähnlich stark entwickelt wie bei der cercoplasmatischen Form von «*H. mirabilis*». Die innere Membran bildet tubuläre Cristae und/ oder kugelige bis scheibenförmige Einstülpungen, die recht zahlreich anzutreffen sind (Abb. 64). Die Matrix ist fein granulär und mäßig elektronendicht. Der Golgi-Apparat (Abb. 61) ist unscheinbar und liegt neben dem Kern oder etwas davor. Er besteht aus wenigen, flachen Zisternen und einigen abgeschnürten Golgi-Vesikeln.

Das ER ist hingegen etwas besser entwickelt. Das sER ist hauptsächlich auf eine Stelle zwischen Kern und Reservoir beschränkt, wo die Kanäle sehr dicht liegen. Das rER bildet einzelne, flache Säcke von ribosomenbesetzten Membranen, die im ganzen Cytoplasma anzutreffen sind.

Lipideinschlüsse in Form von kugeligen Tröpfchen (Durchmesser 0,3 bis $0,5 \mu$) sind nicht sehr häufig (Abb. 63).

'Peroxisome-like organelles' (Abb. 68) haben etwa die gleiche Größe wie die Lipideinschlüsse, sind aber viel häufiger im Cytoplasma vorhanden. Ein kristalliner Innenkörper ist nur selten und schwach erkennbar.

V. Übertragungsexperimente

In den untersuchten Fliegen konnten bei ca. $90 \, ^{0}{}_{0}$ im Mitteldarm *H. muscarum*-Infektionen gefunden werden. Da eine transovarielle Übertragung der Flagellaten bei Schmeißfliegen nicht vorkommt (ROU-BAUD 1912; BECKER 1923; STRICKLAND 1925; BELLOSILLO 1937), muß bei den adulten Fliegen ein guter Übertragungsmodus existieren. Es besteht ferner die Möglichkeit, daß sich bereits die Larven infizieren und die Infektion über das Puppenstadium bis zur Imago erhalten bleibt. Um diese Frage abzuklären, wurden zu verschiedenen Zeitpunkten ältere Larven (3–5 Tage alt) seziert, die in Tierkadavern gefunden wurden. Keine der untersuchten Larven war mit Flagellaten infiziert. Im weitern wurden Larven mit infizierten Därmen gefüttert, was zwar zu einer zeitlich begrenzten Anhäufung von Flagellaten im Larvendarm führte, aber nie zu etablierten Infektionen. Zur Kontrolle wurden auch frisch geschlüpfte Fliegen seziert, die sich jedoch ausnahmslos als nicht infiziert erwiesen.

Beim Saugen von Gewebesaft auf Fleisch geben die Fliegen regelmäßig Kottröpfchen ab; dasselbe erreicht man durch ein leichtes Zusammenpressen des Abdomens. So erhaltene Kotproben wurden auf einen Objektträger gebracht, getrocknet, fixiert und mit Giemsa-Romanowski gefärbt. Es zeigte sich, daß neben Nahrungsresten und Bakterien auch begeißelte Flagellaten abgegeben werden. Neben lebenden werden auch tote oder degenerierte Formen ausgeschieden. Pro Kottröpfchen konnten bis zu 50 000 Flagellaten gefunden werden. Amastigote Formen oder Zysten konnten nie beobachtet werden.

Was für Formen können nun im Kot gefunden werden? Im Falle von *H. muscarum* werden die promastigoten Formen zahlreich ausge-