

Noticia sobre o *Nyctotherus cordiformis* Stein

pelo

Dr. H. de Beaurepaire Aragão

Assistente no Instituto

(Com a estampa 6)

Bemerkungen ueber den *Nyctotherus cordiformis* Stein

von

Dr. H. de Beaurepaire Aragão

Assistent am Institut.

(Mit Tafel 6)

Durante varias tentativas que temos feito, nestes ultimos tempos, para cultivar os flajelados das nossas rans (*Leptodactylus ocellatus*) tivemos muitas vezes ocazião de conservar igualmente por longo tempo vivos *Nyctotheri cordiformes* e observar a multiplicação e o encistamento desse ciliado.

Os meios de cultura que temos uzado são soluções de albumina de ovo em agua fiziojica a 0,85 % tendo encontrado que a proporção de ovo albumina mais conveniente é a de 0,5 %. Esta solução é colocada em placas de PETRI e semeada com fezes de rã, contendo os ciliados. Nestas condições, deixadas as placas a temperatura do laboratorio, se consegue em geral obter nos trez a quatro primeiros dias a multiplicação do ciliado e em dias subsequentes o encistamento

Waehrend verschiedener Kulturversuche, die ich neuerdings mit den Flagellaten unserer Frosche (*Leptodactylus ocellatus*) anstellte, hatte ich oeffters Gelegenheit, auch den *Nyctotherus cordiformis* lange Zeit am Leben zu erhalten und so die Vermehrung und Inzystierung dieses Ziliaten zu verfolgen.

Die Kulturfluessigkeit, die ich verwandte, bestand aus Huehnereiweiss in physiologischer Loesung von 0,85 %; nach meinen Beobachtungen ist die beste Proportion fuer Huehnereiweiss 0,5 %. Diese Loesung kam in Petrischaelchen und wurde mit den ziliatenhaltigen Faezes des Frosches geimpft. Man erhaelt so, waehrend man die Schaelchen bei Laboratoriumstemperatur stehen laesst, gewoehnlich in den drei bis vier ersten Tagen eine Vermehrung des Ziliaten, denen in den

delle. Não raro permanecem os ciliados vivos nas culturas até 15 dias e finalmente morrem sem se encistar.

Muito concorre para a morte dos ciliados uma abundante multiplicação de bacterios nas culturas. A substituição frequente da solução de albumina não evita a mortalidade delles. Tentámos alimentar os *Nyctotheri* nas soluções albuminosas dando-lhes sangue, de que elles são muito avidos. Quando se depozita entre os *Nyctotheri* algumas gotas de sangue de rã ou de carneiro, rapidamente se apoderam elles dos eritrocitos que aos poucos se acumulam na porção do corpo que fica mais perto da terminação do farinje e aí são hemolizados, difundindo-se a hemoglobina na rejião posterior do corpo do protozoario que toma côr alaranjada. Infelizmente, a adição do sangue ás soluções de albumina em que vivem os ciliados tem o inconveniente de facilitar o desenvolvimento de bacterios, o que torna rapidamente o meio improprio para elles.

Apezar da duração bastante prolongada ás vezes dos *Nyctotheri* nas soluções albuminosas e do grande numero de ciliados que nellas existem, não couseguimos até agora observar fenomenos de conjugação.

O processo de divizão já assinalado para a mesma especie por STEIN (1867) não difere em suas linhas gerais do que ocorre em outros organismos do mesmo grupo e para especies do mesmo genero, como para o *N. ovalis* segundo DOFLEIN (1901).

Observa-se que o protozoario aumenta de tamanho, assume uma forma irregularmente retangular e não tarda a apresentar duas pequenas reentrancias no corpo abaixo da boca, sinal do inicio da divizão protoplasmica. Esta aos poucos se acentua e finalmente apenas uma pequena ponte do protoplasma liga os dois novos ciliados que têm então a forma irregularmente arredondada. Uma vez separados recuperam elles rapidamente a forma normal, rejenerando-se as partes que lhes faltam.

Antes mesmo do inicio da divizão do protoplasma dos ciliados já se manifesta nos nucleos delles a divizão. O macronucleo se

naechsten Tagen die Inzystierung folgt. Nicht selten leben dieselben aber auch bis zu 2 Wochen in den Kulturen und sterben, ohne sich zu inzystieren.

Zum Absterben der Flagellaten traegt eine reichliche Bakterienentwicklung besonders bei und ihre Mortalitaet wird auch durch einen Wechsel der Eiweissloesung nicht vermieden. Ich versuchte die *Nyctotherus* in derselben durch Blut zu ernaehren, nach welchem sie sehr gierig sind. Wenn man zwischen dieselben einige Tropfen Frosch- oder Hammelblut bringt, so bemaechtigen sie sich schnell der roten Blutkoerperchen, welche sich nach und nach im Hinterende anhaeuften; sie werden daselbst haemolisiert und das Haemoglobin diffundiert im Endteile des Koerpers, der in Folge dessen einen leichten Orangeton annimmt. Leider hat die Zugabe des Blutes zur Kulturfluesigkeit den Uebelstand, dass sie die Vermehrung der Bakterien beguenstigt und so das Medium rasch unbrauchbar macht.

Obwohl die *Nyctotherus* in den Kulturen oft in grosser Zahl und waehrend langer Zeit beobachtet wurden, konnte ich doch keine Konjugationserscheinungen wahrnehmen. Der Teilungsprozess, der bei dieser Art schon von STEIN erwaeht wurde, ist in seinen Grundzuegen derselbe, wie er bei verwandten Organismen und besonders bei anderen Arten derselben Gattung, wie *N. ovalis* nach DOFLEIN (1900) vorkommt. Man sieht, wie der Organismus sich vergroessert und eine unregelmässig rechteckige Form annimmt; bald darauf zeigt er unterhalb der Mündöffnung zwei kleine Einstülpungen, als Zeichen einer beginnenden Protoplasteileung. Letztere wird allmählich deutlicher und schliesslich sind die beiden Tochterorganismen nur durch eine schmale Protoplasteilebrücke verbunden; sie zeigen dann eine leicht abgerundete Form. Nach der Teilung nehmen sie bald die normale Gestalt an und ergaenzen die fehlenden Teile.

Schon vor der Protoplasteileung dieser Ziliaten zeigt sich die Teilung an den Kernen. Der Makronucleus streckt und vergroessert sich, waehrend seine Chromatin-

alonga e avoluma, os seus elementos cromáticos tomam uma disposição mais regular e não tarda elle a apresentar no centro um estreitamento que se acentua, até que finalmente se separam dois novos macronucleos. No micronucleo os fenomenos de divizão se processam como para as demais formações idênticas em outros ciliados com a formação, a principio, de pequeno novelo cromático, depois de fuzo em que a cromatina se acumula nos polos e que se dividindo ao centro, dá lugar á separação dos novos micronucleos. (Est. 6 Fig. 6 a 10).

A respeito do encistamento do *Nyctotherus cordiformis* poucas referencias são conhecidas. Quem primeiro observou e representou cistos foi STEIN (loc. cit.). Depois d'elle, tanto, quanto conseguimos averiguar, só existe sobre o assunto uma ligeira referencia de DOBELL (1909). Tambem são poucas as referencias sobre encistamento de outros *Nyctotheri*. Existem as de STEIN (loc. cit.) sobre o *N. ovalis* e as de KRAUSE (1906, sobre o *N. giganteus*. Todas, porém, muito resumidas.

O inicio do encistamento se dá nas culturas, ás vezes, logo depois dos primeiros dias e se assinala por diminuição da motilidade do ciliado, a qual se segue a formação em torno d'elle de delgada membrana, no interior da qual elle continua a se mover não ocupando todo o envoltorio cistico (Est. 6 Fig. 2). A fresco são sempre bem viziveis no ciliado no interior do cisto o macronucleo e vestijios do aparelho bucal. Quanto ao micronucleo, este, só raramente, é visto com nitidez, pois, quasi sempre, se confunde com as numerosas granulações que existem no protoplasma do ciliado. Tambem no começo do encistamento são perfeitamente viziveis no interior do ciliado vacuolos contrateis. Desde, porém, que o encistamento se torna completo desaparecem os vacuolos do ciliado e este perde todos os movimentos (Est. 6 Fig. 2 a 4).

O cisto, uma vez completamente formado, tem a forma de elipse larga e longitudinalmente estriada, e apresenta um tamanho muito mais reduzido que ao começo,

elemente sich regelmaessiger ordnen; bald darauf erscheint im Zentrum eine Einschnuerung, welche zunimmt, bis sich die zwei Tochterkerne trennen. Am Mikronucleus ist der Vorgang derselbe, wie bei demjenigen anderer Ziliaten; es bildet sich zuerst ein Chromatinknaeucl, dann eine Spindel, bei welcher sich das Chromatin an den Polen anhaeuft; letztere teilt sich in der Mitte und es folgt die Trennung der neuen Kerne. (Tafel 6, Fig. 6—10).

Ueber die Inzystierung des *Nyctotherus cordiformis* existieren nur wenige Mitteilungen. Die ersten Beobachtungen und Abbildungen der Zysten stammen von STEIN (loc. cit.). Nach ihm habe ich nur eine kurze Erwaehnung von DOBELL (1909) gefunden. Auch in Beziehung auf andere Arten liegt nur wenig vor. Es findet sich eine Mitteilung von STEIN (loc. cit.) ueber *N. ovalis* und eine von KRAUSE (1906) ueber *N. giganteus*; sie sind aber sehr kurz.

Die Inzystierung beginnt in den Kulturen oft schon nach den ersten Tagen und ver-raet sich durch eine herabgesetzte Beweglichkeit des Ziliaten, worauf um denselben die Bildung einer duennen Membran erfolgt, welche von ihm nicht ganz ausgefullt wird und in welcher er sich weiter bewegt (Tafel 6, Fig. 2). Im frischen Praeparate sind der Makronucleus und eine Andeutung des Mundapparates an dem Ziliaten im Innern der Zyste immer klar zu erkennen; dagegen ist der Mikronucleus wegen der zahlreichen im Protoplasma eingeschlossenen Granulationen nur selten deutlich zu sehen. Zu Anfang der Inzystierung sind auch die kontraktilen Vakuolen am eingeschlossenen Tiere leicht wahrzunehmen. Wenn aber die Inzystierung vollstaendig wird, verschwinden die Vakuolen und der Ziliat wird unbeweglich. (Tafel 6, Fig. 2—4). Die vollendete Zyste hat die Form einer breiten, langgestreiften Ellipse und erscheint weit kleiner als zu An-

chegando a ter então 25 μ ao passo que o tamanho primitivo orça por 50 a 60 μ .

A redução total volumetrica do cisto é acompanhada de uma proporcional do macronucleo. O micronucleo é sempre bem vizível nos cistos corados.

Não conseguimos observar a saída dos *Nyctotheri* desses cistos, onde elles ao cabo de algum tempo morrem quer se os conserve nas soluções, em que se formaram, quer se os passe para outras. Não nos foi possível ainda tentar a infecção de rans com esses cistos por não as termos seguramente livres de infecção anterior.

Manguinhos, 29—3—12.

Explicação da estampa

Todos os desenhos foram feitos com a *ocul. comp.* 4 e a *objet. apocrom.* 4 m.

As Figuras 1 a 4 foram desenhadas á altura da meza e as do N.º 5 a 15 á altura da platina.

- Fig. 1 a 4 desenhos a fresco
- » 1 *Nyctotherus cordiformis* forma vegetativa.
 - » 2 a 4 Cistos do ciliado em diferentes fazes de evolução.
 - » 5 a 15 Desenhos feitos em material fixado pela solução de acido picrico acetico e corado pelo carmin boracico.
 - » 5 a 10 *Nyctotherus cordiformis* em diferentes estadios de divizão
 - » 11 a 15 *Nyctotherus cordiformis* em diferentes estadio de encistamento.

fang; ihr Diameter kann nur 25 μ betragen, während er urspruenglich 50—60 μ entsprach.

Die Verkleinerung der ganzen Zyste, wird von einer entsprechenden des Makronukleus begleitet. Der Mikronukleus ist in gut gefaerbten Zysten immer sehr deutlich.

Das Ausschluöpfen der inzystierten *Nyctotherus* konnte ich nicht beobachten; sie sterben nach einiger Zeit ab, gleichviel, ob man sie in der Fluessigkeit belaesst oder sie in frische Loesung uebertraegt. Ich konnte die Infektion von Froeschen mit diesen Zysten noch nicht unternehmen, weil ich ueber keine verfuegte, die sicher uninifiziert waren.

Manguinhos, den 29ten April 1912.

Erklaerung der Tafel.

Alle Zeichnungen wurden mit Kompensationsokular 4 und apochromatischem Objektiv 4 mm. entworfen, Fig. 1—4 auf dem Arbeitstische und 5—15 auf der Hoehe des Mikroskoptisches.

- Fig. 1. 4 Zeichnungen nach frischen Praeparaten.
- Fig. 1. *Nyctotherus cordiformis*, vegetative Form.
- Fig. 2. 4 Zysten in verschiedenen Entwicklungsstadien.
- Fig. 5. 15 Zeichnungen nach Material, welches mit Pikrin-Essigsaeureloesung fixirt und mit Boraxkarmin gefaerbt wurde.
- Fig. 5. 10 *Nyctotherus cordiformis* in verschiedenen Teilungsstadien.
- Fig. 11. 15. Derselbe in verschiedenen Stadien der Inzystierung.



BIBLIOGRAFIA.

- DOBELL, C. 1909 The intestinal parasites of frogs and toads.
Quarterly Journ. of microscopical Sc. N.º 210 Jan.
- KRAUSE, P. 1906 Ueber Infusorien in Typhusstadium
Deutsch. Archiv f. klin. Med. Vol. 86.
- STEIN, F. 1867 Der Organismus der Infusionstiere.

