

Activity of Contractile Vacuole in the Parasitic Ciliate, *Balantidium coli*

The contractile vacuole of protozoa is responsible for maintaining proper osmotic pressure in the cytoplasm of the cell. This is done by draining excess of water from the cytoplasm and expelling it out. The parasitic ciliate, *Balantidium coli*, has 2 contractile vacuoles, one at the posterior end and the other situated more anteriorly. The activity of these vacuoles has not been studied previously. The strain of *B. coli* used in this study was isolated from pig faeces and maintained in JONES' medium¹. It was kept at 37°C and subcultured every 3 or 4 days. For this study the ciliates were first transferred to a starch-free medium for 3 days and then examined. Starch-containing parasites were quite unsuitable for this purpose as starch grains obscured the internal structure of the organism. To study the activity of the vacuoles, a small drop of medium containing the parasites was put on a slide and sealed with a cover-glass. The slide was then left at room temperature for about 1/2 h. This slowed down the parasites sufficiently to be observed and photographed without much difficulty. Observations were made under phase-contrast using a Leitz Orthomat microscope. Photographs were taken with an electronic flash on a Kodak Tri-X film.

The sequence of events displayed by the anterior vacuole was as follows: 1. There was a gradual filling up of the vacuole with enlargement of its size. The vacuole was irregular in shape. 2. There was no apparent increase in size and the vacuole maintained its irregular shape. 3. The vacuole appeared turgid and fully enlarged and it became spherical in shape. 4. The vacuole suddenly collapsed and expelled its contents and became contracted in size and irregular in shape. The whole cycle generally lasted from 20–25 sec. The final phase of expulsion was extremely fast and took only a fraction of a second. The 2 vacuoles in *B. coli* apparently worked independent of each other and did not enlarge or contract simultaneously.

The activity of contractile vacuoles in protozoa has been studied by a number of authors and the subject is briefly reviewed by ORGAN et al.² during the course of their study on the contractile vacuole of *Paramecium multi-*

¹ W. R. JONES, Ann. trop. Med. Parasit. 40, 130 (1946).

² A. E. ORGAN, E. C. BOVEE, T. L. JAHN, D. WIGG and J. R. FONSECA, J. Cell Biol. 7, 139 (1968).

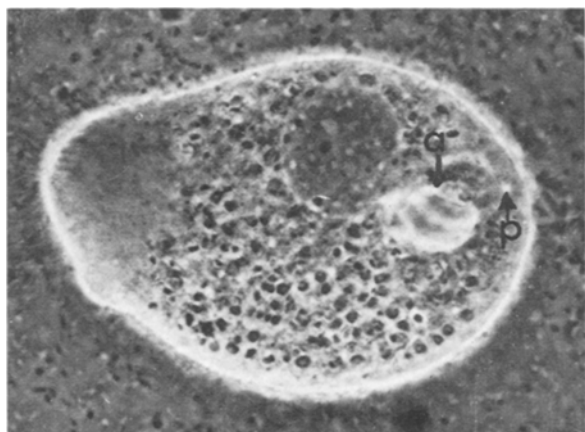


Fig. 1. Phase 1 in which there is gradual filling up of the anterior vacuole. The vacuole appears irregular. a, anterior vacuole; p, posterior vacuole.

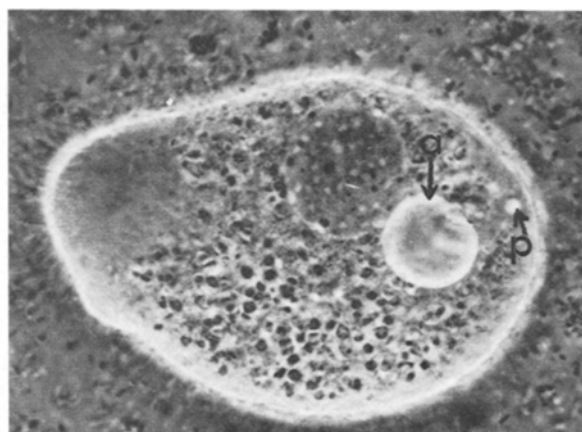


Fig. 3. Phase 3 in which the vacuole is turgid and spherical just before the expulsion of its contents. a, anterior vacuole; b, posterior vacuole.



Fig. 2. Phase 2 in which the vacuole is still irregular. a, anterior vacuole; p, posterior vacuole.

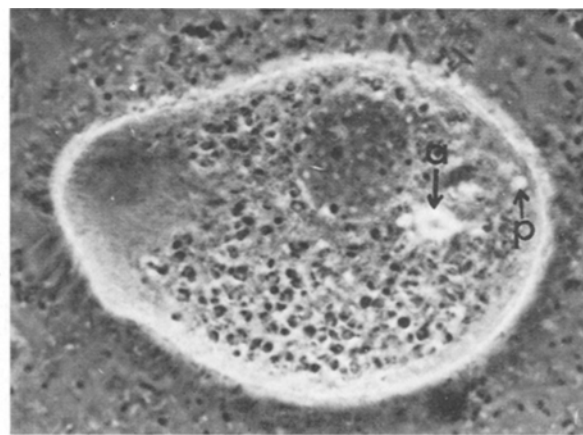


Fig. 4. Phase 4 in which the vacuole has collapsed and emptied its contents. a, anterior vacuole; p, posterior vacuole.

micronucleatum. It is indicated in their study that the collapse of the vacuole occurs due to the force of the surrounding endoplasm and not because of the contraction of the vacuole itself. It is, therefore, suggested by them that the term 'contractile vacuole' is a misnomer and it will be more accurate to describe it as the 'water-expulsion' vesicle. However, in this study it was observed that the vacuole became turgid and completely spherical just before expulsion, indicating an internal build-up of pressure. If the expulsion were to occur as a result of external pressure one would have expected the vacuole to become flattened or irregular prior to expulsion of its contents.

Résumé. Chez le *Balantidium coli*, la vacuole contractile se remplit graduellement et s'agrandit. Après une phase stationnaire, pendant laquelle elle reste irrégulière en apparence, elle se gonfle entièrement, devient sphérique, et puis s'affaisse subitement et expulse son contenu. L'affaissement est très rapide et ne prend qu'une fraction de seconde. Le cycle entier dure généralement 20 à 25 secondes.

V. ZAMAN

Department of Parasitology,
Faculty of Medicine,
University of Singapore, Singapore 3, 21 December 1969.

Production de nidulotoxine par des *Aspergillus* appartenant à différentes espèces

Dans une note précédente¹ nous avons fait mention de la mise en évidence dans des extraits de cultures in vitro d'*Aspergillus nidulans* Wint d'une nouvelle mycotoxine, la nidulotoxine. Cette substance a été purifiée à partir d'extraits chloroformiques; elle cristallise en aiguilles incolores; en chromatographie en couche mince son spot présente une intense fluorescence rouge-brique sous irradiation UV; sa toxicité peut être révélée par inoculation intra-péritonéale au caneton âgé d'un jour, ou par inoculation dans l'œuf embryonné de poule. L'observation fortuite de la présence sur des chromatogrammes d'extraits d'*A. versicolor* Tir. d'un spot ayant les caractères de celui de la nidulotoxine nous a incités à rechercher si cette mycotoxine était synthétisée par des *Aspergillus* n'appartenant pas au groupe *nidulans*.

Les souches utilisées dans l'expérimentation ont été isolées dans notre laboratoire d'échantillons de céréales ou d'aliments composés destinés à l'alimentation du bétail². L'appartenance taxonomique de chacune d'elles a été établie selon les critères proposés par RAPER et FENNELL³. Les souches appartenant aux groupes *A. glaucus*, *A. candidus*, *A. clavatus*, *A. nidulans*, *A. ochraceus*, *A. flavus-oryzae*, *A. fumigatus*, *A. restrictus*, *A. flavipes* ont été cultivées sur milieu liquide synthétique de Czapek modifié selon BRIAN et al.⁴ et supplémenté en asparagine au taux de 2‰, celles du groupe *A. versicolor* sur milieu de Czapek modifié selon BRIAN et al.⁴ mais contenant seulement 5‰ de glucose et supplémenté en une peptone bactériologique (4‰). La préparation des récipients contenant les cultures ainsi que la méthode d'inoculation ont été précédemment décrites¹. Les cultures ont été incubées à 30 °C; la durée de l'incubation a varié de 7 à 10 jours suivant les souches. Les cultures ont été soumises à une extraction par le chloroforme bouillant; l'extrait repris par le méthanol a subi une partition contre l'hexane, puis a été chromatographié, parallèlement à une solution de nidulotoxine, sur couche mince de silica-gel H Merck en éther sulfurique. Dans le cas où les chromatogrammes d'un extrait de souche n'appartenant pas à l'espèce *A. nidulans* présentaient un spot identique à celui de la nidulotoxine, la substance correspondant à ce spot a été purifiée par chromatographies successives en éther et chloroforme-éther (6/4, v/v) et cristallisée à partir de sa solution acétonique. L'identité avec la nidulotoxine a été recherchée par l'établissement du spectre d'absorption en IR (spectrophotomètre Beckman IR 8 – échantillons inclus en KBr).

Cent souches d'*Aspergillus* ont été étudiées. Les 9 souches examinées appartenant à l'espèce *A. nidulans*

Wint se sont avérées productrices de nidulotoxine; en outre, 3 souches d'*A. versicolor* Tiraboshi et 4 d'*A. Sydowi* Thom et Church produisaient un métabolite toxique pour l'embryon de poulet et le caneton, ayant les caractères chromatographiques de la nidulotoxine, et dont le spectre d'absorption en IR est identique à celui de cette mycotoxine.

Des différences apparaissent entre ces 16 souches quant à l'intensité de la synthèse de la nidulotoxine dans des

Tableau I. Production de nidulotoxine par différentes espèces d'*Aspergillus*

Groupe	Espèce	Nombre de souches Etudiées	Productrices de nidulotoxine
<i>A. glaucus</i>	<i>A. repens</i> de Bary	5	0
	<i>A. tonophilus</i> Ohtsuki	2	0
	<i>A. ruber</i> Thom et Church	5	0
	<i>A. chevalieri</i> Thom et Church	8	0
	<i>A. amstelodami</i> Thom et Church	3	0
<i>A. restrictus</i>	<i>A. restrictus</i> Smith	2	0
<i>A. fumigatus</i>	<i>A. fumigatus</i> Fresenius	7	0
	<i>A. fischeri</i> Wehmer	1	0
<i>A. ochraceus</i>	<i>A. ochraceus</i> Wilhelm	1	0
<i>A. candidus</i>	<i>A. candidus</i> Link	15	0
<i>A. flavus-oryzae</i>	<i>A. flavus</i> Link	29	0
	<i>A. parasiticus</i> Speare	2	0
<i>A. versicolor</i>	<i>A. versicolor</i> Tiraboshi	3	3
	<i>A. Sydowi</i> Thom et Church	4	4
<i>A. nidulans</i>	<i>A. nidulans</i> Wint	10	10
<i>A. clavatus</i>	<i>A. clavatus</i> Desmazières	2	0
<i>A. flavipes</i>	<i>A. flavipes</i> Thom et Church	1	0

¹ P. LAFONT, J. LAFONT et C. FRAYSSINET, *Experientia* 26, 61 (1970).

² Nous remercions Monsieur CL. MOREAU (Faculté des Sciences de Brest) de nous avoir fourni une des souches d'*A. versicolor*.

³ K. B. RAPER et D. I. FENNELL, *The Genus Aspergillus* (Williams et Wilkins, Baltimore 1965).

⁴ P. W. BRIAN, A. W. DAWKINS, J. F. GROVE, H. G. HEMMING, D. LOWE et G. L. NORRIS, *J. exp. Bot.* 12, 1-7 (1961).