

Nachdruck verboten.
Übersetzungsrecht vorbehalten.

Zur Entwicklungsgeschichte der *Gregarina cuneata* (F. St.), mit besonderer Berücksichtigung der Entstehung des Geschlechtskerns.

Von

Borivoje Dim. Milojević

(Zoologisches Institut der Universität Beograd-Jugoslavija).

(Hierzu 8 Textfiguren.)

I. Einleitung.

Im Jahre 1920 veröffentlichte ich eine Arbeit über den Zeugungskreis der Gregarinen des Mehlwurmdarms mit besonderer Berücksichtigung der Sexualerscheinungen bei *Gregarina cuneata*, dem Hauptobjekt meiner Untersuchungen. Die Vertreter der beiden anderen Arten derselben Gattung, *G. polymorpha* und *G. Steinii*, die bekanntlich auch im selben Wirt parasitieren, haben so außerordentlich kleine generative Kerne (besonders die letztgenannte Art mit sehr kleinen Cysten), und sind im Verhältnis zu der ersten Art so schwer technisch zu bewältigen, daß von einer eingehenderen cytologischen Untersuchung Abstand genommen werden mußte. Doch konnte ich auch bei den zwei letzten Arten einige Stadien auffinden und mit entsprechenden Entwicklungsvorgängen bei *G. cuneata* vergleichen. Es gilt dies besonders für die Entstehung des Geschlechtskerns, dessen Entstehungsweise bei allen drei genannten Arten ganz ähnlich ist. Die vierte Darmgregarine des Mehlwurms, *Steinina ovalis*, wurde nicht berücksichtigt, da diese Form bei uns sehr selten ist. Cysten dieser Gregarinenart habe ich niemals beobachtet, wohl aber hier und da vegetative Stadien, meistens junge Tiere.

Da die angeführte Arbeit in serbischer Sprache und an einem ziemlich unzugänglichen Orte veröffentlicht worden ist, so dürfte es nicht überflüssig sein, deren Hauptresultate auch in diesem Archiv erscheinen zu lassen, zumal ich manche Ansicht in der Zwischenzeit geändert habe.

II. Geschichtliches und Methodisches.

BERNDT (1902) hat als erster eingehend den Entwicklungskreis der *G. cuneata* untersucht, unter besonderer Rücksichtnahme der Gameto- und Sporogonie. Schon während der Encystierung konnte BERNDT den Austritt des Chromatins aus dem großen Binnenkörper in den Außenkern beobachten. Am Ende dieses Prozesses verliert der Kern seine typische Form, indem seine Membran aufgelöst wird und seine Oberfläche unregelmäßige, „geflamnte“ Fortsätze zu bilden beginnt. Ganz ähnlich wie es MARSHALL (1893) bei *G. blattarum* festgestellt zu haben glaubte, zerfällt auch nach BERNDT bei *G. cuneata* der Außenkern in ein System von chromatinreichen pseudopodienartigen Bruchstücken, die bald darauf an die Cystenperipherie zu wandern beginnen. Es wird also kein eigentlicher Geschlechtskern gebildet und die erste Spindel bleibt gänzlich aus. Nach BERNDT beteiligt sich das blasse, sehr chromatinarm gewordene Caryosom an dieser eigenartigen Zerfallsteilung des Kerns nicht, „sondern bleibt liegen und zerfällt langsam“ (p. 402). Ehe die Gameten- („Sporoblasten“-)bildung einsetzt, „vermehren die Kernstückchen durch . . . primitive mitotische Teilung schnell ihr Chromatin“ (p. 402). Es entstehen dabei „Bläschen“, die eigentlich den generativen Kernen späterer Autoren entsprechen sollen. Indem „Chromatinkörner“ in die an der Zelloberfläche sich emporhebenden Höcker hineinrücken, entstehen die Gameten. Nach der Copulation kommen in jeder Spore 8 Sporoziten zur Bildung, nachdem der kompakte Zygotenkern durch dreimalige direkte Teilung 8 Sporozitenkerne gegeben hat.

Wie BERNDT so findet auch KUSCHAKEWITSCH (1907) keine erste Spindel. Im Gegenteil soll nach diesem Autor bei *G. cuneata* am Beginn des Sexualprozesses eine Chromidialphase eintreten, wie es HERTWIG, SCHAUDINN und ihre Mitarbeiter bei verschiedenen Rhizopoden gefunden zu haben glaubten. Der aufgequollene Kern büßt seine Membran ein und wird „geflamnt“. Sein Chromatin wurde schon vorher aus dem nunmehr blassen, sehr vakuolisierten Caryosom

ausgestoßen und in gelöstem oder feingepulvertem Zustand im ganzen Kernraum regelmäßig verteilt. Um diese Zeit, oder etwas später, hat der so veränderte und in ein Chromidium umgewandelte Kern schon die Innenfläche der Cystenmembran erreicht. Er stellt nunmehr eine Chromidialmasse dar, die sich nachher in der ganzen äußeren Plasmaschicht gleichmäßig verbreitet. Es entstehen in dieser Weise kernlose „Chromidialcysten“, die der Autor zuerst als degenerative Produkte betrachtete, ähnlich den dem Untergang anheimfallenden Actinosphärien, die von HERTWIG „Chromidialtiere“ genannt wurden. Später ist er aber zu der Ansicht gekommen, daß „Chromidialcysten“ sowohl morphologisch als auch physiologisch einen ganz anderen Wert haben und die eigentliche germinative Phase darstellen sollen. Die „Sekundärkerne“ entstehen simultan in ausgebreiteter Chromidialmasse, und zwar durch lokale Kondensationen der Chromatinkörner in kleinen, mit Ausläufern versehenen protoplasmatischen Feldern, die mit den angrenzenden Vakuolenwänden direkt verbunden bleiben. Die Feldchen stellen also eine Art nicht ganz individualisierter Zellen dar. Aus diesen erstehen die Gameten durch zweimalige Teilung ohne Ruhestadium, indem nicht nur die jetzt schon gut ausgestalteten Kerne, sondern auch das dichte Protoplasma dieser „Zellen“ geteilt werden. Der Zygotenkern gibt durch dreimalige direkte Teilung 8 Sporozoitenkerne.

Die Ansichten KUSCHAKEWITSCH'S wurden aber alsbald von LÉGER und DUBOSCQ (1909) und von HARTMANN (1909) als nicht stichhaltig bezeichnet. Nach LÉGER und DUBOSCQ ist „... la phase chromidiale de KUSCHAKEWITSCH est éronnée“ (p. 99). Die Autoren behaupten junge Cysten mit wenigen Kernen, die durch sukzessive mitotische Teilungen die Gametenkerne aus sich hervorgehen lassen, gesehen zu haben. In seinem kritischen Aufsätze kam HARTMANN dagegen zu der Ansicht, daß die ersten Kernveränderungen bei *G. cuneata* „... prinzipiell mit denen der Aggregaten übereinstimmen“ dürften (p. 501). Er deutete sie im Sinne MOROFF'S (1908) als eine Zerfallsteilung des Primärkerns, unter Ausbildung von multipolaren Mitosen am Rande des stark anwachsenden, bis zur Zelloberfläche reichenden Kerns. In dieser Weise erreicht auch die ganze multiple Attraktionsapparatur die Zellperipherie.

Im Jahre 1913 habe ich auf Anregung von Herrn Professor Ž. DJORDJEVIĆ im Spätherbst Untersuchungen über den Entwicklungskreis der *G. cuneata* angestellt und von Anfang an viele junge Cysten mit wenigen generativen Kernen gesehen. Der Ausbruch des Krieges verhinderte meine weiteren Untersuchungen, die ich

erst im Jahre 1919 zum Abschluß bringen konnte. Als meine Arbeit im Druck war, erschien ein Aufsatz von O. SCHIFFMANN (1919), einer Schülerin von R. HERTWIG.

Im Gegensatz zu *Gregarina blattarum*, bei welcher SCHIFFMANN „geflamnte Kerne“ in jungen Cysten findet und als einen typischen Entwicklungsvorgang deutet, lassen sich nach ihr solche Gebilde schwer in den übrigen Verlauf der Beobachtungen über *G. cuneata* einfügen. Geflamnte Kerne sind nach ihr bei dieser Art vielleicht schon bei den freilebenden Gregarinen gewesen. Auch konnte sie nicht entscheiden, ob Cysten mit solchen Kernen einer weiteren Entwicklung und Sporenbildung fähig sind. Der normale Entwicklungsverlauf gestaltet sich folgendermaßen: Bei freilebenden Tieren ist das Caryosom in der Einzahl vorhanden. Die „Nucleolenvermehrung“ erfolgt erst in der Cystenperiode, unmittelbar vor der Kernauflösung. Um diese Zeit tritt in der Nähe des Primärkerns ein deutlich konturiertes Bläschen auf, das wohl mit dem „Micronucleus“ (CUÉNOT)¹⁾ bei *Gregarina blattarum* zu vergleichen ist (ihre Fig. 19). Der Geschlechtskern ist schwach färbbar, wird überhaupt nur wie das Protoplasma gefärbt, während das Eisenhämatoxylin nach HEIDENHAIN gar nicht angenommen wird. SCHIFFMANN konnte nicht feststellen, ob der winzige Geschlechtskern innerhalb des Primärkerns gebildet und sodann ausgestoßen wird, oder ob er sich erst im Zellplasma aus dem ausgetretenen Chromatin kondensiert. Als Vermehrungsteilungen betrachtet sie „Brocken . . . bei denen keine Bläschenstruktur und keine Membran mehr zu erkennen sind. Diese dürften den primitiven Mitosen der ersten Teilungsstadien bei *G. blattarum* entsprechen“ (Fig. 22 und p. 91). Nachdem diese generativen Kerne die Cystenperipherie erreicht haben, erfahren sie eine Veränderung ihres färberischen Verhaltens, indem sie jetzt die Farbe gut annehmen. An der Peripherie angelangt, teilen sich die Kerne weiter in der dichten Plasmaschicht, um Gametenkerne zu geben. Die Sporogonie verläuft dann typisch weiter. — Man muß doch hervorheben, daß an den Abbildungen von O. SCHIFFMANN nicht das erkannt werden kann, was der Text von ihnen sagt. Die bläschenähnlichen Gebilde, die SCHIFFMANN als Micronuclei deuten will (ihre Fig. 19 und 22) sind dies sicher nicht, wie aus dem Vergleich dieser Bilder mit jenen, die ich an entsprechenden Stadien

¹⁾ CUÉNOT (1901, p. 587) nennt micronoyau den ersten Segmentationskern und zugleich einen jeden generativen Kern, der von dem ersten her stammt. In der vorliegenden Arbeit wird unter Micronucleus aber nur der erste generative Kern (= Geschlechtskern) verstanden.

gefunden habe, klar hervorgeht. Ich konnte an meinen mit E.-H. gefärbten Schnitten sowohl die Veränderungen am vegetativen Teil des Großkerns, als auch den Bau und die Teilungen des Kleinkerns und seiner Nachkommen ganz klar verfolgen.

Ich habe zuerst einzelne Cysten aus dem Darm herausgenommen, abgespült und mit lauwarmer BOUIN'scher Flüssigkeit übergossen. Eine Anzahl von Cysten wurde einzeln in Schnitte zerlegt, um ganz einwandfreie Schnittserien zu bekommen. Diese Methode diente jedoch nur zur ersten Orientierung. Später habe ich Darmstücke konserviert und so zugleich eine größere Anzahl von Cysten in Paraffin geschnitten. Gefärbt wurden die Schnitte meistens mit E.-H. nach HEIDENHAIN, ab und zu mit Eosin, Bordeauxrot und Orange-G kombiniert; seltener kamen auch Hämatoxylin nach DELAFIELD, Hämalaun und die MALLORY'sche Methode zur Verwendung.

Um vorgerückte Stadien der Cystenentwicklung zur Sicht zu bekommen, muß man die entlehrten Cysten kultivieren. Nach einigen mißlungenen Versuchen habe ich die besten Resultate auf folgende einfache Weise erhalten: — Die Cysten wurden gut abgespült und zu je 10 Stück auf eine peinlichst gesäuberte Glasplatte in ein kleines, ausgebreitetes Wassertröpfchen gebracht. Die Glasplatte wurde dann als Deckel auf einen kleinen Glasklotz mit gepreßter Vertiefung gesetzt, nachdem in dieselbe etwas Wasser eingegossen wurde. Die Ränder des Glasklotzes müssen natürlich mit flüssiger Vaseline eingeschmiert werden. Die Cysten kann man so im hängenden Tropfen bequem unter dem Mikroskope beobachten und nach Bedarf (Bakterien! Pilze!) in reine Kultur überführen.

III. Eigene Untersuchungen.

1. Die Caryosombildung und der Kern der freilebenden Gregarinen.

Der Sporozoitenkern von *G. cuneata* enthält nur randständige Chromatinbrocken. Ein Caryosom fehlt gänzlich, wenigstens ein färberisch nachweisbares Caryosom. Es ist aber wohl möglich, daß seine achromatische Grundsubstanz schon bei den Sporozoiten differenziert ist. Mit dem Eintritt der Ernährungs- und Wachstums-

periode gehen Hand in Hand auch das Kernwachstum und die eigentliche Caryosomausbildung. Auch die bis zu dieser Zeit unsichtbare Kernmembran wird jetzt immer deutlicher sichtbar. Das Chromatin wird in die Kernmitte verlagert im selben Moment da der Epi- und der Protodeutomerit, die zwei sich zuerst ausdifferenzierenden Körperhauptteile, sich auszugestalten beginnen. Das Chromatin verteilt sich in der achromatischen Caryosomgrundsubstanz. Der stark assimilierende junge Parasit vermehrt sodann sein Chromatin, das in Form eines feinen Pulvers die Lininmaschen des Caryosoms bald ausfüllt. Das kompakte Caryosom ist dann schon definitiv ausgebildet, und zwar vor der Differenzierung des Proto- und Deutomeriten.

Dieser Ausgestaltungsperiode folgt nun eine Wachstumsperiode.

Der Kern des heranwachsenden Parasiten weist ein deutliches Lininmaschenwerk auf, das durch eine starke doppelkonturierte Membran vom übrigen Plasmaspumoid getrennt ist. Das Caryosom hat in seinem Innern auch ein ähnliches Lininsystem, das mit dem erstgenannten, im Außenkern ausgespannten System, kontinuierlich verbunden zu sein scheint, nur sind die Außenwände der Caryosomwaben stark verdickt. Im definitiv ausgebildeten Kern kann man immer färbare Substanzen auch im Außenkern nachweisen. Mit den üblichen technischen Mitteln ist es aber unmöglich, diese Substanzen weiter zu analysieren, und so wissen wir nicht, ob es reines, typisches Chromatin ist, oder aber solches, dem auch andere färbare siderophile Substanzen zugemengt worden sind.

Das Caryosom ist also eine Neubildung. Anders wäre es auch kaum denkbar, denn die generativen Kerne im Cystenstadium haben überhaupt keinen Binnenkörper, und ihre Nachkommen, die Sporozoitenkerne, müssen zuerst neue Caryosome ausbilden. Die Chromatinsubstanz des sich neubildenden Caryosoms stammt vom generativen Chromatin, ebenso wie bei den Infusorien der Macronucleus vom Micronucleus abgespalten wird. Ich bin geneigt den ganzen Prozeß der Caryosombildung im Sinne MOROFF'S (1908) zu deuten, nach welchem Autor auch bei den Aggregaten die Caryosombildung gewöhnlich mit dem Eindringen des jungen Parasiten in die Wirtszelle zusammenfallen soll (p. 93). MOROFF sagt: „Die nach der Bildung des Caryosoms bei *Aggregata* übrigbleibenden Chromatinkörnchen bleiben sicherlich während der ganzen weiteren Entwicklung selbständig und beteiligen sich nicht an den vegetativen Prozessen der Zelle; erst bei der Vermehrung treten sie in Funktion, infolgedessen sind sie mit dem Micronucleus der Infusorien zu ver-

gleichen“ (p. 152). Wollte man nun noch einen Schritt weiter machen, so könnte man sagen, daß das von den generativen Cystenkernen, also eigentlich von der ersten Mitose herstammende generative Chromatin am Anfang des vegetativen Lebens die chromatischen Caryosoms-substanzen aus sich hervorgehen läßt. Es ist einleuchtend, daß dieser Ansicht nach kein Abgrund zwischen Caryosom und peripherischem Chromatin des Sporozoitenkerns bestehen kann.

Auch BERNDT ist geneigt eine Neubildung des Caryosoms anzunehmen (p. 400). Dagegen ist nach LÉGER und DUBOSCQ (1904) das Caryosom schon bei eben in die Wirtszelle eindringendem Sporozoiten von *G. cuneata* zu sehen. Allerdings konnten die Autoren daneben noch einen „arc chromatique“ feststellen (p. 357). Freie Sporozoiten haben sie nicht auf Caryosombildung untersucht. Es ist wohl möglich, daß unter Umständen die Differenzierung des Caryosoms auch früher eintreten kann. Diese Tatsache scheint mir doch keine prinzipielle Bedeutung zu haben, denn die Hauptsache bleibt, daß das Caryosom eine Neubildung ist. Auch SCHELLACK hat bei *Echinomera hispida* (1907) im Sporozoitenkern kein Caryosom gefunden und ebenso SCHAUDINN (1900), nach welchem die Sporozoiten von *Eimeria schubergi* in ihrem Kern nur ein gleichmäßiges Kernnetz ohne Caryosom aufweisen sollen. JAMESON (1920) beschreibt neuerdings bei der Gregarinenart *Diplocystis schneideri* KUNSTL., aus *Periplaneta americana* einen eigenartigen Verlauf der Caryosombildung. Der Sporozoitenkern enthält zwei basophile Kappen, von denen die vordere den „Nucleolus“, die hintere den „Micronucleus“ bildet, und zwar in der Weise, daß die rückwärtige in das Zentrum der vorderen, stark vergrößerten Kappe zu liegen kommt. So entsteht ein Caryosom, das den „Nucleolus“ und „Micronucleus“ zugleich enthalten soll.

Das Caryosom bleibt in der Einzahl während der ganzen vegetativen Periode, im Gegensatz zu anderen Gregarinenarten, bei welchen es nur eine beschränkte, sogar sehr kurze Zeit dauert, um wieder zu zerfallen („Nucleolenvermehrung“).

2. Bildung des Geschlechtskerns. — Generatives Chromatin und generatives Protoplasma.

Die ersten Kernveränderungen sind nur nach erfolgter Encystierung zu sehen. Der Zeitpunkt, um welchen diese Veränderungen eintreten, hängt von verschiedenen äußeren Bedingungen, vor allem von der Temperatur ab. Zunächst beginnt das Chromatin den

Binnenkörper zu verlassen, indem es in gelöster Form tropfenweise ausgeschwitzt oder als feines Pulver ausgestoßen wird. Der Rest des Caryosoms zerfällt später. Der Caryosomzerfall kann aber keineswegs als eine „Nucleolenvermehrung“ gedeutet werden. Das ausgestoßene Chromatin wird sodann an den Lininmaschen gleichmäßig verteilt. Der Kern beginnt sich alsbald beträchtlich zu vergrößern (Fig. A). Die Ursache dieser Vergrößerung liegt wahrscheinlich in der allgemeinen Lockerung des Kernmaterials und in

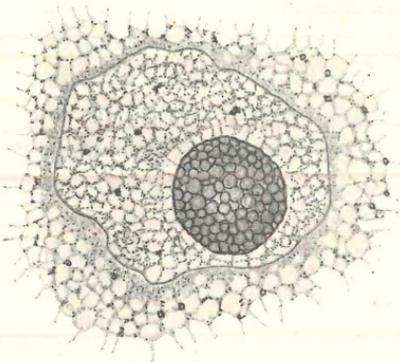


Fig. A.

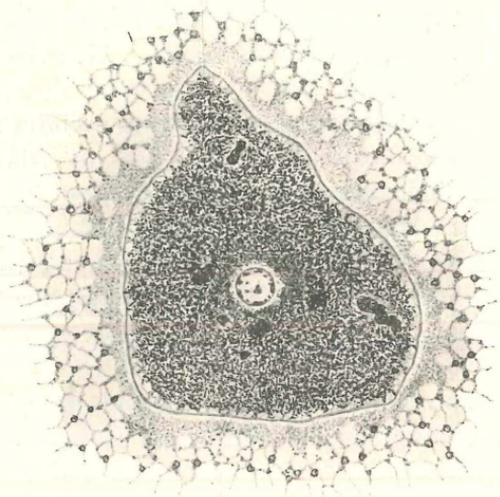


Fig. B.

Fig. A. Beginn der Kernveränderungen. Das Chromatin verläßt allmählich den Binnenkörper. Der etwas vergrößerte Kern wird unregelmäßig. Um ihn herum beginnt das generative Protoplasma sich anzuhäufen. $\times 1800$.

Fig. B. Im Innern des Primärkerns ist der Geschlechtskern zu sehen, umgeben von Resten des Caryosoms. Das generative Protoplasma ist etwas mächtiger geworden. $\times 1800$.

der damit Hand in Hand gehenden Veränderung der osmotischen Ströme zugunsten des Primärkerns. An den gefärbten Schnitten ist aber fast immer die Kernform mehr oder weniger unregelmäßig, indem die Membran Einbuchtungen aufweist. Keinesfalls wird aber der Kern „geflammt“. („Geflammte Kerne“ habe ich bei freilebenden, wahrscheinlich der Degeneration anheimfallenden Gregarinen gesehen, wie sie auch KUSCHAKEWITSCH beschreibt. Wie aber „geflammte Kerne“ im Cystenstadium zu deuten sind, das werden wir unten sehen.) Die unregelmäßige Form des Kerns am Anfang der Cystenperiode (Fig. A) ist m. E. ein Konservierungsprodukt.

Gleichzeitig mit dem Kern zeigt auch das Protoplasma eine typische Veränderung. In der Fig. A ist nämlich um den Kern eine dünne Schicht dichten Protoplasmas zu sehen. Parallel mit der Auflösung des Primärkerns wird diese Schicht immer mächtiger (Fig. B bis E). Im Gegensatz zum gewöhnlichen Protoplasma, das in jeder seiner Alveolen ein Paraglykogenkörperchen enthält, ist dieses neu-differenzierte Protoplasma äußerst feinmaschig, bei oberflächlicher Betrachtung sogar homogen. Es enthält keine geformten Reservestoffe. Auch Chromatin ist nicht in ihm (im Anfang wenigstens) nachzuweisen, wohl aber hie und da einige winzige siderophile Körnchen, deren Chromatinnatur angezweifelt werden kann. Dieses dichte Cytoplasma betrachte ich als generatives Protoplasma

(1921 a). Das generative Protoplasma entsteht durch starke Verdickung der Alveolenwände. Es verschwinden in dieser Weise die Lumina der Alveolen. Diese Verdichtung des Protoplasmas beginnt im Alveolarsaum auf der Kernoberfläche und dringt immer tiefer in die protoplasmatische Masse jedes Individuums. Bei Doppelfärbungen färbt sich das generative Protoplasma genau so wie das gewöhnliche Protoplasma.

Entsprechend seiner Bildungsweise hat das generative Protoplasma sehr unregelmäßige, „geflamnte Form“ (Fig. C). Diese Form gehört also dem generativen Protoplasma und nicht dem Primärkern an. Das Wachstum des generativen Protoplasmafeldes ist ein beschränktes, wie es aus den Abbildungen leicht ersichtlich ist, denn das generative Protoplasma bildet schließlich nur eine dünne Schicht an der Cystenperipherie.

Nachdem das Caryosom sein Chromatin ausgestoßen hat, wird es stark vakuolisiert. Fast immer konnte ich in ihm eine große exzentrische Vakuole beobachten. Früher oder später zerfällt auch das Caryosom selbst (Fig. B), oder wird immer kleiner (Fig. C), um entweder aus dem Kernraum ausgestoßen zu werden (Fig. F), oder

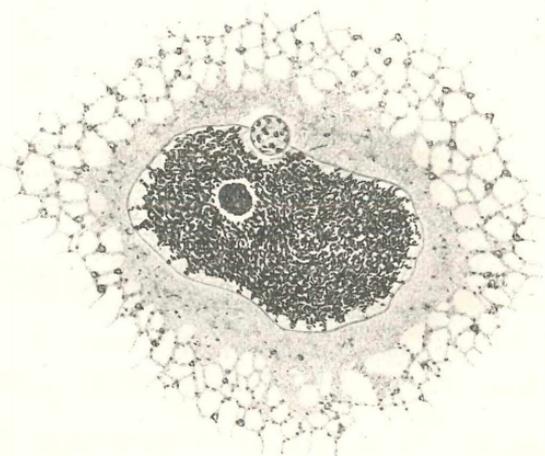


Fig. C. Aus dem vegetativen Kern wird der winzige generative Kern in das generative Protoplasma ausgestoßen. $\times 1800$.

um in loco allmählich resorbiert zu werden. Die Kernmembran bleibt eine Zeitlang erhalten und löst sich sodann auf (Fig. D). Nachdem das Caryosom aufgelöst ist, kann man in der Kernmitte mit aller Klarheit ein Bläschen mit Membran, Lininsystem und Chromatinbrocken sehen, vorausgesetzt nur, daß unter dem Einflusse der Konservierungsflüssigkeit ein heller Hof um dasselbe entsteht. Meines Erachtens stellt dieses Bläschen den Geschlechtskern dar (Fig. B). Der neue kleine Kern verläßt den Kernraum, indem er durch die Kernmembran ausgestoßen wird (Fig. C). Der erste generative Kern wird also intranukleär gebildet. Er hat eine sehr regelmäßige runde Form und doppelkonturierte Membran. Sein Chromatin tritt in Form von mehreren randständigen Brocken auf. Erst nachdem er in dem generativen Protoplasma angekommen ist, beginnt auch die Kernmembran sich aufzulösen um bald gänzlich zu verschwinden (Fig. D). Der Außenkern läßt dabei viele, sehr un-

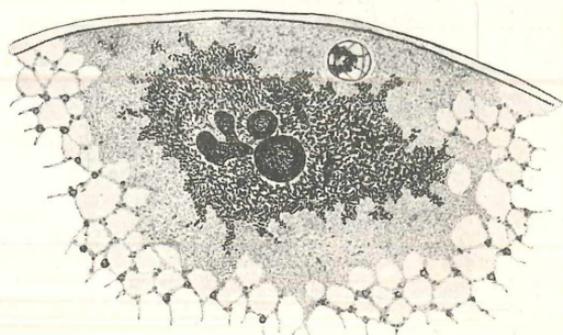


Fig. D. Das generative Protoplasma, in dem der Rest des Primärkerns und der Geschlechtskern eingeschlossen sind, ist an der Cystenhülle angelegt. Die Membran des Primärkerns ist vollständig resorbiert und der mit Chromatin stark beladene Außenkern ist mit vielen Ausläufern in das generative Protoplasma versehen. Vom Caryosom sind nebst einigen Bröckchen noch drei größere Brocken zu sehen.

Resten des sich resorbierenden Caryosoms. Nachträgliche Untersuchungen meiner Präparate veranlaßten mich meine frühere Ansicht nur insofern zu ändern, als ich jetzt geneigt bin die Frage offen zu lassen, ob der Geschlechtskern im Caryosom oder im Außenkern ausgebildet wird. So viel steht jedenfalls fest, daß der erste generative Kern bei *G. cuneata* eine intranucleäre Neubildung ist. Die generative Chromatinkomponente kann zwar bei gewissen Gregarinenarten (JAMESON, 1920) in das sich ausbildende Caryosom (samt der Attraktions-

regelmäßige Ausläufer in das generative Protoplasma hineindringen.

Wann und wie entstehen der Geschlechtskern und das generative Protoplasma?

Ich kam früher (1920) zu der Ansicht, daß das Caryosom selbst die Bildungsstätte des ersten generativen Kerns darstellt, denn man findet den letzten bei seinem ersten Auftritt (Fig. B) in der Mitte des großen vegetativen Kerns, umgeben von spärlichen

apparatur?) verlagert werden, aber das Caryosom selbst ist eine ephemere, zuweilen sogar eine äußerst kurzdauernde und transitorische Bildung, wie ich es einmal bei den Vertretern einer und derselben Gattung *Gregarina* hervorgehoben habe (1921 b). Die Lokalisation des generativen Chromatins im Caryosom ist entweder eine dauernde (während der ganzen vegetativen Periode bei den freilebenden Gregarinen), oder eine vorübergehende. Dagegen kommt bei gewissen Arten mit sehr früh zerfallendem Caryosom das generative Chromatin überhaupt nicht im Binnenkörper selbst zur Ablagerung.

Das randständige Chromatin im Sporozitenkern stammt im ganzen vom generativen Chromatin der ersten Mitose. Nachdem nun dieses Chromatin durch Wachstum und Differenzierung die chromatische Caryosoms substanz geliefert hat, erfährt der übrigbleibende winzige Teil des generativen Chromatins eine tiefgreifende Veränderung seines färberischen Verhaltens, nachdem er zuerst in einen inaktiven Zustand übergetreten ist: das generative Chromatin nimmt nämlich während der vegetativen Periode sehr schlecht, wenn überhaupt, die Farbe an. Deswegen kann man die idiochromatische Komponente im Kern freilebender Gregarinen mit den üblichen technischen Mitteln nicht sichtbar machen und ihre eventuelle Lokalisation im Außenkern oder im Binnenkörper feststellen. Der letztere enthält zwar vielfach zwei Substanzen, die sich färberisch verschieden verhalten (HESSE, 1909); ihre tinktoriellen Reaktionen sind aber durchaus nicht zuverlässig, denn dieselben Substanzen färben sich oft ganz verschieden. Nach BASTIN dürfen diese Reaktionen nicht als ein Ausdruck der differentiellen Färbung etwa des typischen und trophischen Chromatins aufgefaßt werden. Dieser Autor glaubt aber doch, daß das Caryosom zwei Substanzen enthält, von denen nur eine die Chromosomen bilden soll (p. 341).

Was das generative Protoplasma betrifft, so ist auch seine Entstehungsgeschichte im Dunkel geblieben, obwohl die *Gregarina cuneata* geradezu das günstigste Objekt für die Untersuchung dieses Plasmagebildes darstellt. Da es parallel mit dem Geschlechtskern zum Vorschein kommt und bei Ausbildung der Gameten mitverwendet wird, so kann man dieses generative Material als den formatorisch aktiven Plasmaanteil betrachten, ebenso wie der Geschlechtskern im Beginn der Cystenperiode den funktionell aktiven Chromatinanteil repräsentiert. Die ganze generative Masse, sowohl die chromatische, als auch die protoplasmatische, wird also schon am Beginn der Fortpflanzungsperiode herausdifferenziert. Es fragt sich nun, ob auch das formative Protoplasma durch die Generationen-

folge kontinuierlich übertragen wird, oder ob es unter dem Einflusse des wieder aktivierten generativen Chromatins erst aus dem gewöhnlichen Protoplasma herausdifferenziert wird. Die Lösung dieser Frage könnte eine prinzipielle Bedeutung für das Vererbungsproblem haben.

Wenn ich an dieser Stelle die Befunde anderer Autoren einer kritischen Betrachtung unterziehen will, muß ich zunächst hervorheben, daß die Kernsubstanzen der Gregarinen in recht ungleichen Sonderungsarten vorkommen. Kein Wunder, daß die Entwicklungsvorgänge, besonders die verwickelte Anordnungsfolge der Chromatinbestandteile, auch als recht verschieden beschrieben wurden. Was zunächst die negativen Befunde von BERNDT und KUSCHAKEWITSCH betrifft, so scheiden dieselben einfach aus der Diskussion aus. Die „geflamten Kerne“, die nach diesen Autoren in den typischen Entwicklungsverlauf hineinpassen sollen, entsprechen augenscheinlich dem generativen Protoplasma mit eingeschlossenen Resten des Primärkerns und mit neuen, generativen Kernen (vgl. auch die gleich zu besprechende Fig. G). SCHIFFMANN übersah gänzlich das generative Protoplasma, das ich an allen Schnitten an entsprechenden Stadien ausnahmslos gefunden habe.

Es sei an dieser Stelle hervorgehoben, daß das generative Protoplasma von vielen Autoren auf verschiedensten Entwicklungsstufen gesehen und gezeichnet wurde, keiner von ihnen hat aber dieses Gebilde in seiner richtigen Bedeutung erfaßt. Zwar haben es SCHELLACK bei *Echinomera hispida* (1907) und LÉGER und DUBOSCQ (1909) bei *Pterocephalus nobilis* erwähnt, konnten aber nicht das Schicksal des eigenartigen Plasmagebildes von Anfang bis Ende verfolgen, wie ich es getan habe. Bei den zwei genannten Daktylophoriden verlassen die generativen Kerne in den weiblichen Individuen die Cystenperipherie vor der Gametenbildung, um sich wieder im ganzen Cytoplasma zu zerstreuen. Die Kerne wandern aber zunächst in eigentümlichen Zügen und ihnen voran gehen große Kugeln stark verdichteten Protoplasmas (LÉGER und DUBOSCQ 1903, Fig. 4). Die beiden französischen Autoren drücken sich über die Bedeutung dieser protoplasmatischen Gebilde aus wie folgt: „Pour nous, en accord avec SCHELLACK, il s'agit là simplement d'îlots de cytoplasme germinatif“ (1909, p. 60). Auch bei *Aggregata (Eucoccidium) eberthi* (1908) beschreiben diese Autoren ein „cytoplasme germinatif“, das aber diesmal von den Kernsubstanzen herkommen sollte. TRÉGOUBOFF (1914) erwähnt ein germinatives Protoplasma bei *Stenophora juli* (p. 22), ohne sein Schicksal verfolgt zu haben.

Es genügt nur einen Blick auf die zahlreichen Abbildungen verschiedener Autoren zu werfen, um sich zu überzeugen, daß dieses Protoplasma bei den Gregarinen sehr weit, wahrscheinlich auch ganz allgemein verbreitet ist. Das generative Protoplasma umgibt entweder einzeln oder gruppenweise die winzigen generativen Kerne. (Vgl. die Abbildungen von BRASIL, 1905, von LÉGER und DUBOSCQ, 1903, 1909, von BASTIN, 1919 u. a. m.) Auch die Fig. 2—4 von SCHNITZLER möchte ich in demselben Sinne deuten, wie ich es für meine Fig. B—D getan habe. Das unregelmäßige, dichte Feld mit großen Vakuolen und erster Mitose entspricht augenscheinlich dem in Zerfall begriffenen Primärkern im generativen Protoplasma an meiner Fig. F. Seine Fig. 4 entspricht wahrscheinlich meiner Fig. E, indem sie die erste Spindel im generativen Protoplasma neben dem Rest des Primärkerns aufweist.

In der umfangreichen Gregarinenliteratur sind recht verschiedene Bildungsweisen des Geschlechtskerns angegeben worden. Die Autoren widersprechen einander sowohl in den Ansichten über die Ausgangssubstanzen, als auch über die Bildungsstätte des ersten generativen Kerns. Nach dem Vorgang von BASTIN (1919, p. 362—363) könnte man folgende Bildungstypen aufstellen:

Typus I. Die erste mitotische Figur entsteht vom „Micronucleus“, der im Cytoplasma, nach der Auflösung des Primärkerns, rekonstituiert wird. Das Caryosom scheint sich an diesem Prozeß nicht zu beteiligen. Nach BASTIN entsprechen diesem Entwicklungsmodus die Befunde von SIEDLECKI bei *Monocystis (Lankesteria) ascidiae* (1899), von CUÉNOT bei *Diplocystis* (1901), von PROWAZEK bei *Monocystis agilis* (1902), von LÉGER und DUBOSCQ bei *Pterocephalus nobilis* (1909) und von GALTZOFF bei *Geneiorhynchus monieri* (1911).

Ich möchte aber hervorheben, daß die Homologisierung der angeführten Fälle nur unter der Voraussetzung möglich ist, daß auch bei *Monocystis ascidiae*, *Diplocystis* und *Geneiorhynchus* die erste Mitose von einem intranucleär entstandenen Micronucleus (= „Bläschen“, „Kleinkern“ nach PROWAZEK) her stammt, so wie es für *Monocystis* und *Pterocephalus* von PROWAZEK und LÉGER und DUBOSCQ festgestellt zu sein scheint. Es ist durchaus wahrscheinlich, daß SIEDLECKI, CUÉNOT und GALTZOFF bei den genannten Arten den intranucleären Geschlechtskern übersehen haben. CUÉNOT hat tatsächlich (Taf. XXI, Fig. 51) den winzigen, bläschenähnlichen Kern im Ruhestadium nahe dem Primärkern gefunden, ohne aber seine Herkunft erklären zu können. Nach PROWAZEK (S. 299—300) und LÉGER und DUBOSCQ (1909, p. 47) ist der Micronucleus allerdings

schon intranucleär definitiv abgeformt und braucht nicht erst im Cytoplasma rekonstituiert zu werden. Im Protoplasma ist der Geschlechtskern dagegen immer in Teilung begriffen. Wenn wir nun in diesem Sinne den BASTIN'schen Typus I modifizieren wollen, so gehören demselben noch einige Gregarinenarten an. Vor allem ist hier die *Echinomera hispida* zu nennen, bei der SCHELLACK ein intranucleäres Bläschen (= Geschlechtskern) gefunden hat, das nach dem Zerfall des großen Kerns die erste Mitose gibt (Taf. X, Fig. 20 und 30). Endlich können hier auch die Vertreter der Gattung *Gregarina* hinzukommen. Bei *G. cuneata*, *polymorpha* und *Steini* konnte ich den intranucleären Geschlechtskern nachweisen. Die ersten Kernveränderungen im Cystenstadium bei *G. ovata* (SCHNITZLER 1905) wurden oben schon mit jenen von *G. cuneata* homologisiert.

Es sei noch hervorgehoben, daß die Entstehung des Geschlechtskerns bei *G. cuneata* und *Pterocephalus nobilis* außerordentlich ähnlich verläuft, mit Ausnahme der Ausbildung des generativen Protoplasmas. Meine Fig. B entspricht der Fig. 9, Taf. I von LÉGER und DUBOSCQ (1909). [Diese letzten sprechen allerdings nur mit Reserve von diesem Stadium bei *P. nobilis*, das sie interpretieren „sans certitude, comme l'ébauche du micronucléus“, p. 47.]

Typus II. Die Spindel ist intranucleär. Das Caryosom wird in das Cytoplasma ausgestoßen, oder bleibt im Kernraum ohne sich an der Spindelbildung zu beteiligen. Diesem Typus sollen nach BASTIN einige *Monocystis*-Arten angehören (MRÁZEK¹), 1899, CUÉNOT, 1901, CECCONI, 1902).

Hierher könnte man m. E. auch den Typus I von BRASIL (1905, Taf. IX, Fig. 2) zählen, der drei Typen bei den *Monocystis*-Arten aufgestellt hat. Ferner sind an dieser Stelle vielleicht auch *Ophryocystis schneideri* (LÉGER, 1907, Taf. VII, Fig. 41) und *Schyzocystis gregarinoides* Taf. VI, Fig. 45) zu erwähnen.

Typus III. Bei der Bildung der ersten mitotischen Figur findet sowohl das „nucleäre“ (vom Außenkern herstammende), als

¹) An der Abb. 1 von MRÁZEK ist die Centrosphäre (= Micronucleus) bei *Monocystis* aus *Rhynchelmis* in einiger Entfernung vom intakten Primärkern dargestellt, also extranucleär. Ich möchte diesen Fall (vgl. besonders Fig. 2 von MRÁZEK) eher mit dem ersten als mit dem zweiten BASTIN'schen Typus vergleichen, denn er ähnelt mehr jenem, der von SIEDLECKI bei *Monocystis ascidia* beschrieben ist. Übrigens muß man zuerst die Veröffentlichung der ausführlichen Arbeit von MRÁZEK abwarten, die meines Wissens noch nicht erfolgte. (Im Jahre 1920 hat mir MRÁZEK persönlich die zahlreichen Abbildungen und Tafeln gezeigt. Damals hatte er sich aber nach 20 Jahren noch nicht entschlossen, die Arbeit in extenso zu veröffentlichen.)

auch das karyosomale Chromatin Verwendung. Die Spindel selbst ist intranucleär. Nach BASTIN gehören hierher einige Monocystisarten (BRASIL) und *Metamera schubergi* (LYNDHURST DUKE). [Es handelt sich hier eigentlich um Typus II von BRASIL, Taf. IX, Fig. 12—14, den der Autor jedoch mit den Befunden CUÉNOT's (vgl. dessen Fig. 11, 13 und 14) bei Monocystideen identifiziert.]

Typus IV. Die erste Spindel entsteht im Cytoplasma (extranucleär), die Chromosomen haben aber eine nucleoläre Herkunft. Eine solche doppelte Herkunft findet BASTIN bei *Monocystis rostrata* MULS. (MULSOW, 1911)¹⁾ und nicht ohne Reserve auch bei *Kalpidorhynchus arenicolae* (ROBINSON, 1910).

Vielleicht könnte man auch den Fall von *Diplocystis schneideri*, der von JAMESON (1920) eingehend beschrieben worden ist, mit dem bei *M. rostrata* vergleichen. Im Gegensatz zu den anderen *Diplocystis*-Arten, die oben besprochen wurden, bildet sich bei *D. schneideri* an der Kernmembran eine Strahlung aus, die sich bald teilt. Unterdessen hat sich das Caryosom schon vollständig aufgelöst. Das Kernreticulum, eingeschlossen in eine dünne Membran, ist mit Brocken und feinem Chromatinpulver beladen. Die Kernmembran reißt, und der „Micronucleus“, d. h. die idiochromatische Komponente des zusammengesetzten Caryosoms (vgl. oben!) bildet die Chromosomen der ersten progamen Mitose aus, bei deren Ausbildung nur ein kleiner Teil des Primärkerns Verwendung findet.²⁾

Typus V. Die erste Spindel ist intranucleär; die 8 Chromosomen entstehen ausschließlich vom Nucleolus (Caryosom). BASTIN rechnet hierher: *Monocystis agilis* (BASTIN) und vielleicht *Rhynchocystis hessei* (COGNETTI de MARTIIS, 1911).

Bei *M. agilis* scheint das Caryosom nach BASTIN aus zwei Substanzen zusammengesetzt zu sein. Nach dem Zerfall des Caryosoms werden von Chromatinbrocken 8 Chromosomen gebildet. Oft ist im Kern nur das zu Chromosomen organisierte Chromatin zu sehen (p. 341). Im Gegensatz aber zu allen anderen Gregarinenarten konnte der Autor bei seiner *M. agilis* die integrale Verwendung des Primärkerns bei der Ausbildung der ersten progamen

¹⁾ MULSOW selbst deutet allerdings seine Befunde auf folgende Weise: „Anders verläuft der Vorgang bei dem von mir untersuchten Objekt. Der Teilungsapparat für die erste Mitose wird von dem großen ursprünglichen Kern geliefert, das Idiochromatin tritt in Gestalt von Chromosomen direkt in die fertige erste Spindel ein“ (p. 36). Nach MULSOW liegt dieser Entwicklungsmodus bei den meisten Gregarinen vor.

²⁾ Zitiert nach BĚLAŘ, Arch. f. Protistenk. Bd. 42 p. 442, 1921.

Mitose feststellen („ . . . la participation de tout le contenu nucléaire à la première division du noyau des grégarines enkystées“, p. 358). Doch konnte BASTIN nicht „le premier début de l'apparition du fuseau“ (342) beobachten.

Nach BASTIN haben auch CUÉNOT (1901, Fig. 13) und BRASIL (1905, Fig. 19—24) diesen Entwicklungsmodus bei den Monocystideen schon angegeben; BRASIL betrachtet den Fall sogar als seinem „troisième exemple de mitose“ angehörend, indem er ihn mit der typischen Caryokinese der Metazoenzellen vergleicht, da ein Teil des Chromatins das Caryosom verläßt und sich ein Spirem ausbildet. Nach BASTIN beziehen sich aber die entsprechenden Abbildungen der genannten Autoren auf die Art *M. agilis*.

Was die Befunde von COGNETTI DE MARTIIS betrifft, so sind dieselben sehr spärlich. Der Autor selbst vergleicht seinen Fall mit Typus III von BRASIL, nämlich die Prophase der ersten Teilung. Das Caryosom zerfällt in sekundäre Caryosome und „pochi cromosomi foggianti a cordoncino sinuoso“ (p. 222). Es bildet sich eine Sphäre aus, und bevor die Chromosomen in die erste Spindel (deren Entstehung der Autor nicht verfolgen konnte) übertreten, wird auch die Kernmembran aufgelöst (Taf. IX, Fig. 23—24).¹⁾

Obwohl die angeführten Typen auf den ersten Blick recht verschieden zu sein scheinen, sind sie doch vielfach durch Übergänge verbunden. Die verschiedenen Entwicklungsweisen bei den untersuchten Gregarinen sind m. E. auf die zwei folgenden Typen zurückzuführen:

A) *Gregarina cuneata*-Typus. — Der winzige Geschlechtskern wird intranucleär definitiv ausgebildet und tritt im Bereich des großen vegetativen Kerns in Form eines Bläschens auf. Er hat eine doppelkonturierte Membran, randständiges Chromatin und bringt die Attraktionsapparatur mit. Der Geschlechtskern enthält das Idiochromatin, welches im Außenkern oder im Binnenkörper als Reservechromatin im Anfang der vegetativen Periode zur Ablagerung gekommen war. Während dieser Periode bleibt die Attraktionsapparatur im Innern des großen vegetativen Kerns und zieht wahrscheinlich das Idiochromatin in seine Nähe. Am Beginn der Fortpflanzungsperiode organisieren sich dann die genannten Substanzen

¹⁾ Die Angaben von COGNETTI DE MARTIIS beziehen sich aber auf *Monocystis parendrili* C. de M. und nicht auf *Rhynchocystis hessei*, wie es BASTIN (p. 363) behauptet.

und ein Teil des angrenzenden Achromatins zu einem typischen Kern (Geschlechtskern, Micronucleus). Die erste Mitose bildet sich nur außerhalb des vegetativen Kerns — eventuell im generativen Protoplasma — aus. Der weitaus größte Teil des vegetativen Kerns wird resorbiert.

Als diesem Typus angehörend betrachte ich folgende Arten:

Gregarina cuneata, *G. polymorpha*, *G. Steini* (alle drei nach eigenen Untersuchungen), *G. ovata* (nach SCHNITZLER) und wahrscheinlich auch alle andere Arten derselben Gattung, ebenso wie *Lankesteria ascidiae* (SIEDLECKI), *Diplocystis* (CUÉNOT), *Monocystis* aus *Lumbricus* (PROWAZEK), *Pterocephalus* (LÉGER und DUBOSCQ), *Geneiorhynchus* (GALTZOFF), und *Echinomera* (SCHELLACK), mit der Anmerkung, daß mir eine Nachuntersuchung der letzten sieben Formen sehr wünschenswert erscheint.

B) *Monocystis magma*-Typus. Es wird überhaupt kein Geschlechtskern als solcher gebildet. Die germinativen Substanzen treten im Anfang der Fortpflanzungsperiode sogleich in Gestalt einer Mitose auf, indem die individuelle Kernform vorübergehend aufgegeben wird. Der in der Nähe des vegetativen Kerns im Cytoplasma eingeschlossene Attraktionsapparat bildet die erste Spindel aus und zieht die Chromosomen an, die sich vorher aus dem im Innern des Großkerns suspendierten (oder im Caryosom abgelagerten) Geschlechtschromatin organisiert hatten. Die erste Spindel kann entweder extranucleär gebildet werden und die Kernoberfläche nur berühren, oder aber sie dringt mehr oder weniger tief in den vegetativen Kern ein und wird intranucleär. Sie kann aber auch intranucleär gebildet werden (L. DUKE). Ein kleinerer oder größerer Teil der Kernsubstanzen zerfällt dabei und beteiligt sich nicht an der Ausbildung der ersten mitotischen Figur. Im extremen Falle bildet sich der ganze Kern in die erste Spindel um, wie es für die typische Caryokinese charakteristisch ist.

Hierher gehören verschiedene *Monocystis*arten (MULSOW; CUÉNOT; C. DE MARTIIS; CECCONI; BRASIL; BASTIN), *Metamera Schubergi* (L. DUKE), *Kalpidorhynchus arenicolae* (ROBINSON), *Ophryocystis*, *Schizocystis* (LÉGER) und *Diplocystis* (JAMESON).

Nach BASTIN wären die verschiedenen Entwicklungsmodi der ersten Mitose von der Chromatinquantität des vegetativen Kerns, d. h. von seiner Größe, abhängig (p. 364—365). Z. B. der Kerndurchmesser bei *Diplocystis* kann nach CUÉNOT bis 80 μ betragen, bei *Monocystis agilis* beträgt er nach BASTIN dagegen nur ca. 15 μ und enthält somit nicht mehr von der chromatischen Substanz, als

es eben für die erste Mitose nötig ist. Kein Wunder, daß der ganze Kern zur Bildung der ersten Mitose mitverwendet wird. *Monocystis magna* hat einen mäßig großen Kern, von dem ein Teil bei der ersten Mitose abgeworfen wird. In dieser Weise wären vielleicht die Übergangsformen bei dem *Monocystis*-Typus zu erklären. Die Sache scheint mir doch nicht so einfach zu sein, denn *Gregarina cuneata* hat einen 19 μ großen Kern mit Caryosom von ca. 10 μ im Durchmesser, bei *G. polymorpha* ist der Kern unwesentlich kleiner, dagegen bei *G. Steini* beträgt er nur ca. 12 μ . Diese Maße beziehen sich auf die größten Individuen, die ich beobachtet habe.

Wenn man, nach dem Vorgang von CUÉNOT den Geschlechtskern einen „Segmentationskern“ (1901, p. 587) nennen will, so kann man für seine Bildungsweise ein Analogon in der Entstehung des Segmentationskerns bei den Metazoen finden. Bekanntlich vereinigen sich bei *Echinus* im Befruchtungsakt die beiden Pronuclei, um einen typischen Kern zu bilden. Dagegen bei *Ascaris* kommt es überhaupt nicht zu einer Verschmelzung der Vorkerne, und der eigentliche Segmentationskern bleibt aus. Es wird hier nur durch Teilung der Attraktionsapparatur eine Spindel ausgebildet, die sodann die Chromosomen aufnimmt, indem diese von den bis dorthin selbständig gebliebenen Vorkernen geliefert werden. Dies soll nur ein bildlicher Vergleich sein und nichts mehr, indem auch bei den Gregarinen entweder ein Segmentationskern gebildet wird, oder er bleibt gänzlich aus und wird sogleich durch eine Mitose ersetzt.

3. Das Verteilen der generativen Kerne und des generativen Protoplasmas im Cystenraum.

Die Vermehrungsteilungen erfolgen nur im generativen Protoplasma (Fig. E—H). Die generativen Kerne sind also nicht im ganzen Cystenkörper unregelmäßig zerstreut, wie es Autoren bei anderen Arten beschrieben haben. Das generative Protoplasma spielt dabei eine bedeutende physiologische Rolle. Der vegetative Kern zerfällt und seine Teile verkleinern sich fortwährend, als ob sie schmelzen. Es entstehen auf diese Weise kleinere oder größere chromatinreiche Vakuolen (Fig. F), die dann aufgelöst und seitens des generativen Protoplasmas resorbiert werden. Das letzte wird infolgedessen sehr reich an gelösten Chromatinsubstanzen und färbt sich in diesem Stadium mit E.-H. etwas stärker als das gewöhnliche Protoplasma. Parallel mit dem Fortschreiten der Vermehrungsteilungen geht auch die Kernparzellierung und Resorption,

obwohl man keine Regel in diesem Sinne aufstellen kann. Auch wird um diese Zeit das ganze generative Material an die Cystenperipherie transportiert. Die Auflösung der Kernmembran, Caryosomzerfall, Parzellierung und Resorption des vegetativen Kerns, Vermehrungstempo der Cystenkerne im generativen Protoplasma, ebenso wie das Anlegen des ganzen Ausgangsmaterials der Gameten an die Innenfläche der Cystenmembran, wo die Gametenbildung stattfinden soll — alle diese Vorgänge können sich gegeneinander zeitlich verschieben. Aus einem Vergleich der Fig. D bis G geht dies mit aller Klarheit hervor. In einem Falle (Fig. D) hat das generative Protoplasma mit dem eingeschlossenen Geschlechtskern schon die Cystenperipherie erreicht, wogegen die Fig. G einen

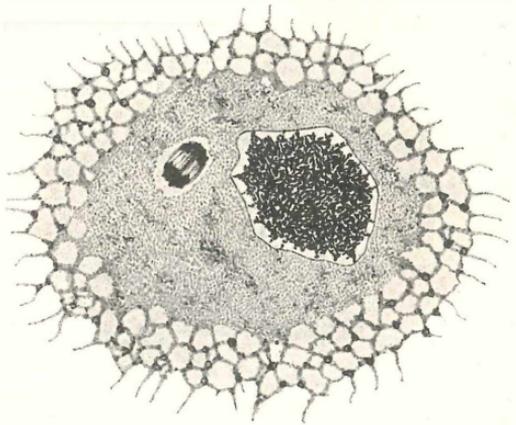


Fig. E. Erste Mitose im generativen Protoplasma, in der Nähe des sich resorbierenden vegetativen Kerns, dessen Caryosom gänzlich zerfallen und dessen Membran noch erhalten ist. (Im Schnitt ist nur ein Teil des Großkerns zu sehen.) $\times 1800$.

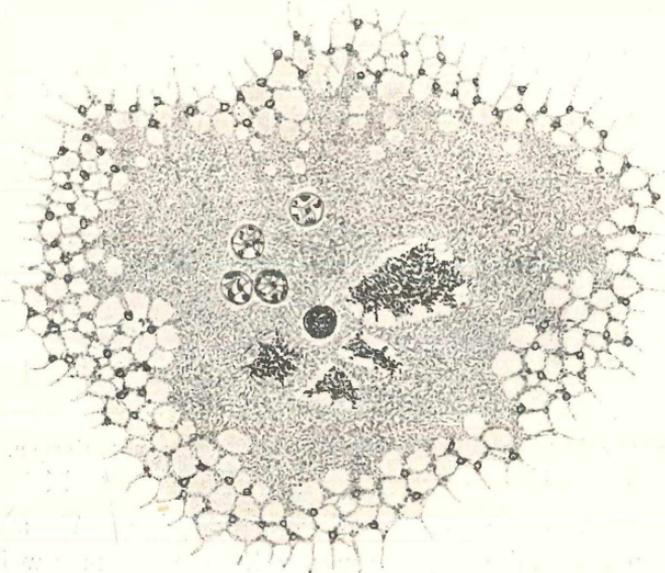


Fig. F. Stadium mit 4 generativen Kernen. Der Großkern ist parzelliert worden, der Caryosomrest befindet sich im generativen Protoplasma. $\times 1800$.

Fall darstellt, in welchem das generative Protoplasma eine Menge von Cystenkernen enthält und doch sehr weit von der Zellmembran entfernt ist. Auch der Fall ist sehr häufig, daß ein Individuum in der Entwicklung vorangeht. Mit CUÉNOT (p. 608) möchte auch ich der Asynchronie in den angeführten Vorgängen keinen zu großen Wert beilegen, am wenigsten in denselben ein Zeichen des Sexualdimorphismus erblicken. Ich bin eher geneigt die zeitlichen Verschiebungen der Entwicklungsvorgänge als individuelle Entwicklungsvariationen zu deuten.

Das formative Protoplasma, dessen Aktivität besonders in einer regen Assimilierung des in Zerfall begriffenen vegetativen Kerns

zum Ausdruck kommt, ist auch Sitz einer Bewegung. Es ist wie ein aktiv ausgebreitetes rhizopodenartiges Tierchen im gewöhnlichen Protoplasma suspendiert (Fig. G). Ich stelle mir vor, daß die generative Protoplasma-masse aktiv die Cystenperipherie erreicht, indem sie auch die generativen Kerne mitbringt. An der Cystenperipherie angelangt, stellt sie zuerst eine dicke Schicht dichten Protoplasmas dar, in dem

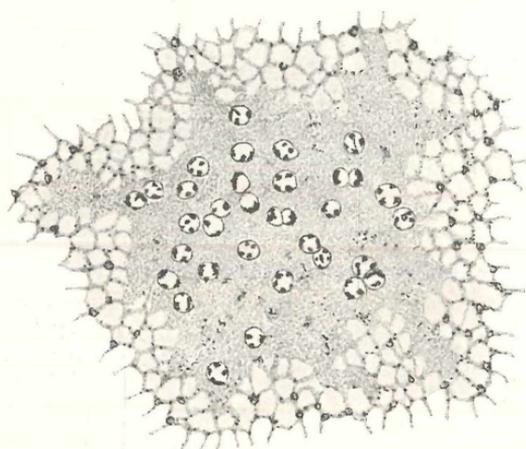


Fig. G. Stadium mit vielen generativen Kernen, die im generativen Protoplasma zerstreut sind. Das letzte hat eine sehr unregelmäßige, „geflamnte“ Form. $\times 1800$.

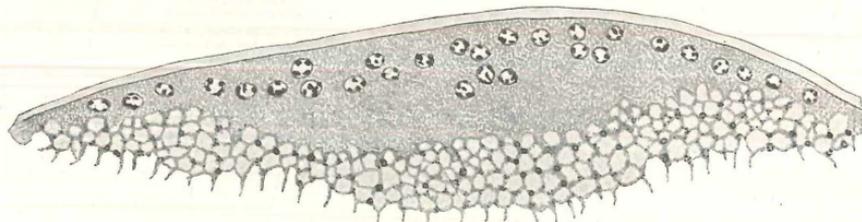


Fig. H. Periphere Lage des generativen Protoplasmas mit Kernen, vor seiner Ausbreitung in der äußeren Schicht des Cytoplasmas. $\times 1800$.

die zahlreichen Kerne ungleichmäßig verteilt sind. Alsdann beginnt dieses Protoplasma mit seinen schmalen Rändern immer weiter unter der Cystenmembran vorzudringen (Fig. H), indem es immer dünner wird. Endlich ist nur noch ein Saum dichtstrukturierten Proto-

plasmas mit einer einzigen Schicht von winzigen Kernen unter der Cystenmembran zu sehen. Dieses Endstadium wurde nun von vielen Autoren gesehen, doch hatte keiner von ihnen die vorhergehenden Entwicklungsstufen des generativen Protoplasmas eruiert.

Auf der Fig. D ist eine Prophase des Geschlechtskerns zu sehen. Das Chromatin ist zu einem hufeisenförmigen, spiremähnlichen Gebilde zusammengedrungen und im Kernnetz ausgespannt. Die doppeltkonturierte Kernmembran ist besonders deutlich.

Die Fig. E stellt die erste Mitose dar, die ich zweimal gesehen habe. Die Spindel ist von einem hellen Hof umgeben, der wohl als ein Konservierungsprodukt zu deuten ist. Im dichten generativen Protoplasma sind keine Strahlungen zu sehen, denn das Centrosom ist im Innern des Kerns eingeschlossen und die Kernmembran bleibt auch während der Teilung erhalten. Zwischen den Tochterplatten sieht man einen schwärzlichen Streifen. Ich konnte nicht entscheiden, ob dieser Achsenstab eine Centrodosome im Sinne HEIDENHAIN'S, oder ein axiales Chromosom (LÉGER und DUBOSCQ, 1909) darstellt. Es ist auch durchaus nicht ausgeschlossen, daß er ein Produkt der konzentrischen Differenzierung nach E.-H.-Färbung ist, indem die innersten Spindelfasern länger die angehäuften Farbe beibehalten (vgl. auch SIEDLECKI, p. 525). Die Chromosomenzahl in der ersten Mitose konnte ich ebenfalls nicht feststellen.

Einmal wurde ein Zweikernstadium und ebenso ein Stadium mit vier Kernen gefunden (Fig. F). In beiden Fällen waren die Kerne entsprechend kleiner als der Geschlechtskern, doch war ihr Bau deutlich ausgeprägt und durch das Vorhandensein einer Membran, randständigen Chromatins und einer schwer nachweisbaren innenständigen Attraktionsapparatur ausgezeichnet. Besonders oft konnte ich Stadien mit mehreren und recht vielen Kernen finden (Fig. G).

BERNDT und KUSCHAKEWITSCH haben in ihrem „geflamten Kern“ (nach mir = generatives Protoplasma + Rest des vegetativen Kerns + generative Kerne) nur deshalb die kleinen Kerne vermißt, weil sie die Farbe allzu stark beim Differenzieren ausgezogen haben. Dagegen hat SCHIFFMANN Stadien, auf denen noch kein generatives Protoplasma ausgebildet war — und somit auch keine erste Mitose — als Vermehrungsteilungen gedeutet (ihre Fig. 19).

Die Kernteilungen in dem Stadium mit wenigen Kernen sind selten zu sehen. SCHNITZLER konnte z. B. nur Ruhestadien beobachten. Dieser Umstand, ebenso wie die Kleinheit der Cystenkerne, erschweren ungemein eine cytologische Untersuchung, und deshalb

mußte von einem solchen Abstand genommen werden. Ich möchte an dieser Stelle nur folgendes hervorheben:

Die Membran bleibt auch während der Teilung erhalten und schließt ein feines Kernnetz, das Centrosom und 4 Chromosomen ein. Das Caryosom bleibt während der ganzen Vermehrungsperiode gänzlich aus. Die Kernteilung ist eine primitive Mitose mit innerem Centrosom, wie es auch SCHNITZLER bei *G. ovata* beschreibt. In der Prophase scheint ein Spirem gebildet zu werden. In der Anaphase konnte ich oft 4 Chromosomen in jeder Tochterplatte zählen. In der Telophase ist die Spindel oft leicht gekrümmt. Die Vermehrungsteilungen sind nicht synchron.

Nachdem die Kernteilungen beendet sind, furcht sich das hyaline generative Protoplasma in so viele Portionen ab, als es in ihm Kerne gibt. So entstehen die Gameten.

Einige Kerne beteiligen sich nicht an der Gametenbildung und bleiben zerstreut im Cystenkörper, um im weiteren Verlauf der Entwicklung zugrunde zu gehen. Mit CUÉNOT, BRASIL und BASTIN betrachte ich dieselben nicht als spezifische „somatische Kerne“, die von den übrigen generativen Kernen abgespaltet werden sollen, sondern als solche, die nicht zur richtigen Zeit die Zelloberfläche erreicht hatten, und deswegen degenerieren müssen.

Die ausgebildeten Gameten sind äußerst winzig. Auf dem „Perlenstadium“ sind sie im lebenden Zustande als helle Tröpfchen unter der Cystenmembran deutlich zu sehen. Der große vereinigte Plasmarest gerät alsbald in gut sichtbare, dennoch nicht lebhaftere Bewegungen, indem er sehr breite Lobopodien ausbildet, um die Copulanten zusammenzubringen. Diese interessanten Bewegungen konnte ich regelmäßig in meinen Cystenkulturen beobachten. Nachdem die Copulation beendet ist, verlagert sich der protoplasmatische Rest an die Cystenperipherie, indem das Cytoplasma jetzt in mehreren radialen Strömen gegen die Cystenmembran zu fließen beginnt. Nach kurzer Zeit findet man die Copulae in der Cystenmitte und die grobvakuoläre Restkörpermasse an der Peripherie, wo sie alsbald beginnt die Sporodukten auszubilden.

An den gefärbten Schnitten konnte ich mit größter Mühe einige Veränderungen an den Gameten beobachten, die ich wohl mit SCHNITZLER und LÉGER und DUBOSCQ (1909, bei *Gregarina Munieri*) als den Reduktionsvorgang deuten möchte. Die unreifen Gameten haben einen dichtstrukturierten, sich stark färbenden Kern. Ich

habe den Eindruck bekommen, als ob sich bei allen Gameten in einer Cyste an einem ihrer Pole ein Richtungskörperchen ausbilde, nachdem sich der Kern heteropolar geteilt hat, ebenso wie nach LÉGER und DUBOSCQ die zweite Reifeteilung bei *G. Munieri* heteropolar sein soll. Auch TREGOUBOFF (1914) beschreibt bei *Stenophora juli* eine heteropolare Teilung des Gametenkerns, und neuerdings BASTIN bei *Monocystis agilis*. Ob auch bei *G. cuneata* eine zweite Reifeteilung stattfindet, konnte ich nicht feststellen. Übrigens haben meines Wissens nur LÉGER und DUBOSCQ (1909, p. 96—97) und BASTIN (p. 367) zwei Reifeteilungen bei den Gregarinen direkt gesehen.

Die Frage nach der Chromatinreduktion bei den Gregarinen steht noch vielfach im Dunkel und erheischt weitere Untersuchungen. Der von PAEHLER (1904) und SCHNITZLER (1905) zum ersten Male beschriebene Reduktionsvorgang muß heute noch als eine strittige Stelle im Zeugungskreis der Gregarinen bezeichnet werden, besonders der Ort dieses Vorganges im Entwicklungszyklus. SIEDLECKI deutet die Ausstoßung des Caryosoms und des größten Teiles des Kerninhaltes während der Geschlechtskernbildung als eine echte Reduktion.¹⁾ Nach CAULLERY und MESNIL (1900), PROWAZEK (1902), BRASIL (1905) und JAMESON (1920) werden am Beginn der Fortpflanzungsperiode bei den Gregarinen nur die zwei Komponenten, der somatische und der generative Kern, die in einem doppelwertigen Kern vereinigt waren, voneinander getrennt. Die eigentliche Reduktion aber, findet nach BRASIL während der ersten zwei Mitosen statt. MULSOW glaubt dagegen den Reduktionsvorgang in den letzten Vermehrungsteilungen bei *Monocystis rostrata* gesehen zu haben, wodurch die Zahl der Chromosomen von acht auf vier reduziert wird. Nach BASTIN vollzieht sich die Reduktion bei *Monocystis agilis* ebenfalls in zwei letzten Teilungsschritten (7. u. 8. Teilungsschritt), und zwar ist der erste von ihnen „heterotypisch“ und der zweite „homoeotypisch“ (p. 367). PAEHLER, SCHNITZLER u. a. m. finden den Reduktionsvorgang bei den Gameten selbst. Neuerdings nehmen aber DOBELL und ein Schüler von ihm, JAMESON (1917, 1920), an, die Reifeteilung finde bei der ersten metagameten Teilung statt. Nach dieser letzten Ansicht wären also die freilebenden Gregarinen haploide Organismen und die diploide Phase wäre nur sehr kurze

¹⁾ SIEDLECKI sagt: „Wir glauben indes, daß in der Ausstoßung des Caryosoms und des größten Teiles des Kerninhaltes während der ersten Stadien der Conjugation zweier Gregarinen, eher eine echte Reduktion als nur eine Reinigung des Kernes zu sehen ist“ (1899 p. 535).

Zeit, im Synkaryon der Zygote, realisiert, um schon nach der ersten metagamen Teilung zu dem haploiden Zustand herabzusinken. Es ist m. E. durchaus nicht ausgeschlossen, daß die Gregarinen keinen einheitlichen Reduktionstypus aufweisen, ebenso wie wir bei ihnen zwei Typen der Geschlechtskernbildung gefunden haben. Neue Untersuchungen, sowie Nachuntersuchungen sind dringend nötig für die endgültige Lösung dieser Frage.

Die Gameten sind schon reif im Moment als sie das Copularium — den mit Flüssigkeit ausgefüllten Raum zwischen Cystenmembran und Cytoplasma — erreichen. Der Kern der reifen Gameten enthält eine kompakte Chromatinmasse. Der Gametenkörper ist sphärisch oder oval, zuweilen an einem Ende ausgezogen, doch kann man keine konstanten Verschiedenheiten feststellen, die als ein Ausdruck des Sexualdimorphismus zu deuten wären. Vielleicht ist es aber nur wegen der exzessiven Kleinheit dieser Elemente bei *G. cuneata* sehr schwer solche Differenzen festzustellen, denn es ist sehr wahrscheinlich, daß bei allen Gregarinenarten die Individuen zweigeschlechtlich differenziert sind.

Die Copulae sind unmittelbar nach erfolgter Gamentenverschmelzung sphärisch. Der Zygotenkern ist lockerer als der Gametenkern und schiebt sich bald zu der ersten metagamen Teilung an. Diese, sowie die zwei folgenden Teilungen, haben einen mitotischen Charakter, im Gegensatz zu den Angaben von BERNDT und KUSCHAKEWITSCH.

Schon während der ersten metagamen Teilung zieht sich der Zygotenkörper etwas aus und nimmt ein subsphärisches Aussehen an. In der Prophase sind vier randständige Chromatinkügelchen zu sehen, die bald in acht geteilt werden, und das Centrosom, das fast immer in der Zweizahl vorhanden ist. Ich konnte nicht feststellen, ob dieser Zustand eine Folge der Zweiteilung der Attraktionsapparatur ist, die durch eine Gamete in die Zygote eingeführt wird. Wenn dem so ist, dann wären die Gameten sexualdimorph, indem etwa nur die männlichen Gameten ein Centrosom enthalten würden. In der Metaphase fallen deutlich die sich intensiv färbenden Centrosomen an den Polen der Spindel auf, verbunden durch einige Zentralfasern, die etwas stärker die Farbe aufnehmen. Im Endstadium der Anaphase konnte ich die beiden Tochterplatten mit je 4 Chromosomen und einem davorbefindlichen Centrosom feststellen. Die Vermehrungsteilungen und die erste metagame Teilung sind also durch

Spaltung einer vollen Chromosomengarnitur charakterisiert. Die Reifeteilung erfolgt also an einem anderen Ort im Entwicklungskreis dieser Gregarine, und zwar bei den abgeformten Gameten.

Die zwei weiteren metagamen Teilungen weisen denselben mitotischen Charakter auf, nur sind jetzt die Spindeln äußerst winzig. Das Caryosom bleibt noch immer aus, und die Kerne zeigen eine rein wandständige Lagerung des Chromatins. Erst bei dem sich anheftenden Sporozoiten beginnt der Kern sich zu verändern. Damit sind wir an dem Punkt angelangt, von dem die Schilderung ihren Ausgang genommen.

Beograd, den 12. April 1924.

Literaturverzeichnis.

- BASTIN, A. (1919): Contribution à l'étude des Grégarines monocystidées. Bull. Biol. de la France et de la Belgique T. 53.
- BERNDT, A. (1902): Beitrag zur Kenntnis im Darne der Larve von *Tenebrio molitor* lebenden Gregarinen. Arch. f. Protistenk. Bd. 1.
- BRASIL, L. (1905): Nouvelles recherches sur la reproduction des Grégarines monocystidées. Arch. de Zool. expér. et gén. 4^e Série T. 4.
- CAULLERY, M. et MESNIL, F. (1900): Sur un mode particulier de division nucléaire chez les Grégarines. Arch. d'Anat. Micr. T. 3.
- CECCONI, G. (1902): De la sporulation de *Monocystis agilis* STEIN. Ibid. T. 5.
- COGNETTI de MARTIIS, L. (1911): Contributo alla conoscenza delle Monocisdee e dei loro fenomeni riproduttivi. Arch. f. Protistenk. Bd. 23.
- CUÉNOT, L. (1899): Sur la prétendue conjugaison des Grégarines. Bibl. anat. Nancy T. 7.
- (1901): Recherches sur l'évolution et la conjugaison des Grégarines. Arch. de Biol. T. 17.
- GALTZOFF, P. (1911): Beobachtungen über den Bau und die Entwicklung der Zygoten von *Geneiorhynchus mounieri* A. SCHN. Zool. Anz. Bd. 38.
- HARTMANN, M. (1909): Polyenergide Kerne. Studien über multiple Kernteilungen und generative Chromidien bei Protozoen. Biol. Zentralbl. Bd. 29.
- HESSE, E. (1909): Contribution à l'étude des Monocystidées des Oligochètes. Arch. de Zool. expér. et gén. 5^e Série T. 3.
- JAMESON, A. P. (1920): The chromosome cycle of gregarines, with special reference to *Diplocystis schneideri* KUNSTLER. Quart. Journ. of Micr. Sci. Vol. 64.
- KUSCHAKEWITSCH, S. (1907): Beobachtungen über vegetative, degenerative und germinative Vorgänge bei den Gregarinen des Mehlwurmdarms. Arch. f. Protistenk. Suppl. I.
- LÉGER, L. (1907): Les Schizogregarines des Trachéates. I. Le genre *Ophryocystis*. Ibid. Bd. 8.
- (1910): Les Schizogregarines des Trachéates. II. Le genre *Schizocystis*. Ibid. Bd. 18.

- LÉGER, L. et DUBOSQ, O. (1903): La reproduction sexuée chez Pterocephalus. Arch. de Zool. expér. et gén. (Notes et Revue No. 9) 4^e Serie T. 1.
- — (1904): Nouvelles recherches sur les grégarines et l'épithélium intestinal des Trachéates. Arch. f. Protistenk. Bd. 4.
- — (1908): L'évolution schizogonique de *Aggregata* (*Eucoccidium*) *Eberthi*. Ibid. Bd. 12.
- — (1909): Études sur la sexualité chez les Grégarines. Ibid. Bd. 17.
- LYNDHURST DUKE, H. (1910): Some observations on a new Gregarine (*Metamera Schubergi* n. gen., n. sp.). Quart. Journ. of Micr. Sci. Vol. 55.
- MARSHALL, W. ST. (1893): Beiträge zur Kenntnis der Gregarinen. Arch. f. Naturgeschichte Bd. 1, 59. Jahrg.
- MILOJEVIĆ, B. (1920): O seksualitetu kod gregarina iz larve Brašnara (*Tenebrio molitor*). Glasnik hrv. prirodoslovnog društva Bd. 31.
- (1921 a): Sur le protoplasma génératif chez *Gregarina cuneata*. C. R. Soc. de Biol. Paris T. 84.
- (1921 b): Sur les transformations du Caryosome chez les Grégarines (à propos d'une nouvelle espèce: *Gregarina mrázeki*). Ibid. T. 85.
- MOROFF, TH. (1908): Die bei den Cephalopoden vorkommenden Aggregataarten als Grundlage einer kritischen Studie über die Physiologie des Zellkernes. Arch. f. Protistenk. Bd. 11.
- MRÁZEK, A. (1899): Studia o Sporozoich. Věstn. Král. Čes. Společn. Nánk.
- MULSOW, K. (1911): Über Fortpflanzungserscheinungen bei *Monocystis rostrata* n. sp. Arch. f. Protistenk. Bd. 22.
- PAEHLER, F. (1904): Über die Morphologie, Fortpflanzung und Entwicklung von *Gregarina ovata*. Arch. f. Protistenk. Bd. 4.
- PROWAZEK, S. (1902): Zur Entwicklung der Gregarinen. Ibid. Bd. 1.
- ROBINSON, M. (1910): On the reproduction of *Kalpidorhynchus arenicolae* (CUGHM.). Quart. Journ. of Micr. Sci. Vol. 54.
- SCHELLACK, C. (1907): Über die Entwicklung und Fortpflanzung von *Echinomera hispida* A. SCHN. Arch. f. Protistenk. Bd. 9.
- SCHIFFMANN, O. (1919): Über die Fortpflanzung von *Gregarina blattarum* und *Gregarina cuneata*. Ibid. Bd. 40.
- SCHNITZLER, H. (1905): Über die Fortpflanzung von *Clepsidrina ovata*. Ibid. Bd. 6.
- SIEDLECKI, M. (1899): Über die geschlechtliche Vermehrung der *Monocystis ascidiae*. R. LANK. Bull. intern. de l'Acad. des Sci. de Cracovie.
- TRÉGOUBOFF, G. (1914): Sur l'évolution sexuelle de *Stenophora juli* A. SCHN. et la position systématique de la famille des Sténophoridae L. et D. Arch. de Zool. expér. et gén. T. 54 No. 2.

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: [Archiv für Protistenkunde](#)

Jahr/Year: 1925

Band/Volume: [50 1925](#)

Autor(en)/Author(s): Milojevic Borivoje Dim.

Artikel/Article: [Zur Entwicklungsgeschichte der Gregarina cuneata \(F. St.\), mit besonderer Berücksichtigung der Entstehung des Geschlechtskerns 1-26](#)