

Beiträge zur Kenntniss der Gregarinen.

Von

William Stanley Marshall.

Hierzu Tafel II.

Gregarina (Clepsidrina) blattarum v. Sieb.

Obgleich diese Gregarine bei ihrer Grösse und ihrem häufigen Vorkommen schon oft untersucht, und obwohl ihre Entwicklungsgeschichte von Bütschli¹⁾ beschrieben worden ist, so schweben über dieselbe doch noch einige Fragen, die bis jetzt keine Lösung gefunden haben. Die hauptsächlichsten derselben sind folgende: einmal die Frage nach der Rolle, welche der Kern in der Entwicklung spielt; zum andern, die nach dem Ursprung der Sporen. Was Bütschli über die Entwicklungsgeschichte geschrieben hat, ist der Hauptsache nach richtig. Bei seiner Untersuchung der lebenden Sporen und Cysten war es ihm jedoch unmöglich, die Rolle des Kerns bei der Entwicklung, sowie den Ursprung der Sporen mit Bestimmtheit anzugeben. Natürlich sprach er seine Ideen darüber aus, die ja zumeist auch richtig sind. Aber er konnte sie nicht beweisen, da sich die ganze Entwicklungsgeschichte eben nur bei Untersuchung einer grossen Anzahl von Schnitten genau verfolgen lässt. Diese Methode, die Entwicklungsgeschichte in Schnitten zu studieren, hat Bütschli selbst als die einzig sicher zum Ziele führende angegeben. Die ersten praktischen Versuche mit derselben hat Wolters²⁾ angestellt, ohne sie jedoch zu Ende zu führen. Obgleich die Mehrzahl seiner Zeichnungen richtig ist, so fehlen ihm doch zu viele Entwicklungsstadien, um den wahren Zusammenhang dessen, was er gesehen und abgebildet hat, erkennen zu können. Meine Aufmerksamkeit wurde zuerst durch Herrn Dr. Korschelt, während meines Praktizierens im Zool. Laboratorium zu Berlin, auf diese Frage gerichtet, und obgleich es mir damals nicht möglich war, die ganze Entwicklung genauer zu verfolgen,

¹⁾ Kleine Beiträge zur Kenntniss der Gregarinen. Zeit. f. Wiss. Zool. 1881.

²⁾ Die Conjugation und Sporenbildung bei Gregarinen. Archiv f. mikroskop. Anatomie. Bd. XXXVII.

so fand ich doch später in Leipzig unter Herrn Geheimrath Leuckart Gelegenheit dies ausführen zu können und die Fragen über den Ursprung der Sporen und das Schicksal des Kerns zu beantworten. Bei dieser Gelegenheit sei es mir vergönnt, meinem verehrten Lehrer, dem Herrn Geheimrath Leuckart, für das Interesse, das er meiner Arbeit widmete, für die Benutzung seiner reichhaltigen Bibliothek, wie überhaupt für sein Wohlwollen gegen mich, meinen aufrichtigen Dank auszusprechen.

Clepsidrina blattarum kommt im Darm von *Periplaneta orientalis* ziemlich häufig vor, und zwar meistens im Chylusmagen, während sich die Cysten im Enddarm finden. Hier wurden sie auch von Valentin¹⁾ gefunden, aber für Insekteneier gehalten. Er sagt: „In dem Magen dieses Tieres (*Peripl. orientalis*) finden sich häufig, besonders im Winter und Frühjahr Insekteneier, welche sich in dem weiteren Verlaufe des Darmkanals fernerhin entwickeln.“ Als v. Siebold²⁾ im darauffolgenden Jahre die Arbeiten Dufour's über Gregarinen kritisierte, erwähnte er auch, dass er dieselben Tiere im Darm der Schaben gefunden habe und sagte: „Es schienen mir diese Körper Insekteneier zu sein.“ Zwei Jahre später jedoch schilderte er³⁾ die Gregarina der Schaben unter dem Namen *Gregarina blattarum*.

Die Zahl der Gregarinen im Darne unserer *Periplaneta* ist oft eine so grosse, dass der ganze Chylusdarm mit denselben angefüllt erscheint; sie liegen in der Nähe der Darmwand dicht aneinander, sodass nur ein kleiner Raum für die Speise übrig bleibt. In der Regel sind die Schaben von einem Orte entweder ganz frei oder nur schwach infiziert, oder aber sie sind fast durchgängig sehr stark von diesen Parasiten heimgesucht. Die Cysten sind im Enddarm sehr häufig, und ich fand in einem Falle deren 58 auf einmal. Nachdem ich die Cysten aus dem Enddarm oder Koth entnommen hatte, wurden sie entweder den Schaben sogleich wieder verfüttert oder in eine feuchte Kammer gestellt. Es ist sehr schwierig die Cysten zur Entwicklung zu bringen, da viele Pilze um die Cysten herum wachsen oder sich in denselben entwickeln, und die Nährsubstanz aufbrauchen, welche im Innern der Cysten für die Gregarinen-Sporen aufgespeichert ist. Auf den ersten Blick ist es auffallend, dass Pilze plötzlich im Innern der Cysten erscheinen. Doch erklärt sich ihr Vorkommen wohl dadurch, dass sich vor oder während der Conjugation Pilzsporen auf den Gregarinen befestigen, die dann nach der Encystirung im Inneren der Cyste liegen.

Die Entwicklung der Cysten geht sehr oft schon im Darm der *Periplaneta* ziemlich weit vor sich, so dass das Stadium, in welchem sie den Darm verlassen, nicht genau zu bestimmen ist. Bei den-

¹⁾ Repertorium für Anat. und Physiol. 1836.

²⁾ Müller's Archiv 1837, p. 408.

³⁾ Beiträge zur Naturgeschichte der wirbellosen Tiere in Neuste Schriften der naturforschenden Gesellschaft in Danzig. 1839.

jenigen Cysten, welche im Chylusdarm gefunden werden, ist die Trennungslinie zwischen den zwei Individuen immer noch vorhanden. Hier kommen sie jedoch nur selten vor, weil sie sehr schnell nach ihrer Encystirung in den Enddarm übergehen. Das Stadium, in dem beide von einander noch getrennt sind, findet sich auch bei denjenigen, welche den Darm verlassen haben, doch nur selten. Daraus ist zu ersehen, dass es unmöglich ist, von der Stelle, wo die Cysten gefunden werden, einen Schluss auf das Entwicklungsstadium der Insassen zu ziehen. Nur nach der Zerlegung in Schnitte kann man hierüber Klarheit erlangen.

Die Veränderungen der Cysten, welche bei oberflächlicher Betrachtung sich bemerkbar machen, sind folgende: 1. die Erscheinung der Sporen an der Peripherie, welche das Blastodermstadium bildet; 2. das Verschwinden der Trennungslinie zwischen den zwei Gregarinen; 3. die Erscheinung der Sporoducte auf der Oberfläche; 4. äusserliches Wachstum der Sporoducte und Austreibung der Sporen. Andere Veränderungen sind auch sehr oft in der Inhaltsmasse zu beobachten; so in der netzförmigen Zusammensetzung des Inhalts, oder in dem Auftreten dunkler Flecke. Diese letzteren bilden sich jedoch nur bei Incubationsversuchen, denn diejenigen Cysten, welche sofort an Schaben verfüttert wurden, zeigten diese Erscheinung nicht.

Wie schon Bütschli angegeben hat, besteht jede Cyste aus zwei Tieren, die von einer gemeinsamen Hülle umschlossen sind. Derselbe bildet mehrere Stadien ab, bei welchen zwei conjugierte Individuen eine gemeinsame Cuticula um sich bilden, und die Sporen sich innerhalb derselben entwickeln. Bei vielen der von mir untersuchten Exemplare war die Trennungsfläche zwischen beiden noch erhalten, und bei einer Anzahl derselben war sogar noch die Cuticula zwischen Proto- und Deutomerit zu bemerken. Die Grösse der Tiere vor der Cystenbildung lässt sich nicht genau bestimmen, aus der Verschiedenheit der Grösse der Cysten muss man vielmehr schliessen, dass die Grösse der Tiere mit der Cystenbildung nicht im Zusammenhange steht. Es erscheint mir wahrscheinlicher, dass zwei Tiere von gleicher Grösse, die in Conjugation sind, sich encystiren, wenn ihre Nucleoli eine bestimmte Entwicklung erreicht haben.

Es ist hiernach begreiflich, dass die Conjugation zuerst für eine Teilung oder Knospung gehalten wurde, je nachdem die conjugierten Individuen von gleicher oder ungleicher Grösse waren.

In Bezug auf die Grössenverhältnisse der copulierten Individuen sind drei Fälle möglich, die auch alle oft beobachtet worden sind: 1. das vordere und hintere Individuum sind von gleicher Grösse, 2. das vordere ist bedeutend grösser, als das hintere; 3. an Stelle des hinteren hängen zwei kleinere dem vorderen an. Von diesen dreien ist der erste Fall am häufigsten und höchst wahrscheinlich der einzige, in dem eine Cystenbildung auftritt. Unter den vielen Cysten, wo die Trennungslinie vorhanden war, sah ich keine einzige,

welche aus zwei ungleichen Stücken bestand, und ich glaube daher, dass so lange die Tiere von ungleicher Grösse sind, eine Cyste sich nicht bildet. Die in Conjugation befindlichen Individuen sind entweder beide lang und dünn, oder kurz und gedrungen. Meiner Meinung nach erklärt sich hieraus die Verschiedenheit der Cystenformen. Aus dem ersteren werden sich die ovalen, aus den letzteren die runden bilden.

Ohne Zweifel ist die Schabe der einzige und alleinige Wirt unserer *Cleptidina*. Schon Bütschli's Fütterungsversuche beweisen die direkte Übertragung. Auch ich fand, dass vier bis sechs Tage nach der Fütterung viele der jungen Parasiten auf den Epithelzellen des Chylusdarmes sich vorfanden. Wie ich schon früher erwähnte, waren die Schaben von manchen Orten stark inficiert, während andere ganz frei von Parasiten waren; wenn nun diese letzteren in einem Kasten gehalten wurden, in dem früher inficierte Individuen sich befanden, so erschienen dieselben in zwei bis drei Wochen ebenfalls stark inficiert.

Da Bütschli bereits ohne Schnitte die Entwicklung der *Cl. blattarum* sorgfältig verfolgt hat, so erscheint es am Platze, zunächst einen kurzen Überblick über seine Resultate vorzuschicken, bevor ich meine eigenen Untersuchungen darlege. Ich habe seine Versuche mit lebendigen Cysten wiederholt, habe dabei aber keine neuen Beobachtungen machen können, bin vielmehr zu denselben Ergebnissen wie er gelangt.

Wenn die zwei *Clept.*, welche in Conjugation sind, ihre Cystenbildung beginnen, so verändern sie langsam ihre Stellung, sodass ihre Längsachsen, die anfangs in einer Geraden liegen, einen Winkel bilden, der stetig kleiner wird, bis die Achsen einander parallel laufen. Es liegt dann das Protomerit jedes Individuums dem hinteren Ende des Deutomerits des andern Individuums dicht an. Jetzt beginnt eine langsame Rotation; die Contour, die anfangs noch Einschnürungen, entsprechend den vier Teilen der zwei conjugierten Tiere, zeigte, wird glatter, bis die Cyste endlich eine vollkommen ovale oder kuglige Gestalt annimmt. Wenn diese Form entstanden ist, so werden zwei Hüllen gebildet, eine äussere durchscheinende Gallerthülle von ansehnlicher Dicke, und eine innere Cystenhülle, die dünner und härter ist. Während der Entwicklung dieser Hüllen erscheinen auf der Oberfläche der Cyste ein oder mehrere Schichten junger Sporen, jede, wie Bütschli beobachtete, mit einem Kern versehen. Dieser Kern ist wahrscheinlich das erste der Chromatin-Körner, auf welche ich später zurückkommen werde. Vor dem Auftreten der Sporen hat Bütschli in jeder Hälfte der Cyste einen Kern wahrgenommen, welcher keine deutlichen Nucleoli enthielt, sondern nur eine fein granulirte Masse. Bei Cysten eines späteren Stadiums hat er eine Anzahl kleiner Kerne bemerkt. Die Sporen, welche auf der Oberfläche gelegen sind und der Cyste ein blastodermähnliches Ansehen verleihen, verschwinden sehr bald und wandern nach dem Centrum der Cyste, jedoch nicht eher, als bis

die Trennungsgrenze verschwunden ist. Nach kurzer Zeit fangen hierauf die Sporoducte an sich zu bilden; sobald dieselben ihre vollständige Entwicklung erlangt haben, treten die Sporen durch dieselben aus.

In meiner Beschreibung werde ich nur das Wort Spore benutzen. Unter Sporen verstehe ich diejenigen Körper, in welchen sich die spindelförmigen Keime (junge Gregarinen) entwickeln. Freilich besteht ein grosser Unterschied zwischen den eben gebildeten Sporen und denen, worin die Keime fertig entwickelt sind; doch beide Stadien sind durch eine ununterbrochene Reihe von Übergangsformen verbunden. Da die Nucleoli der encystirten Cleps. eine Hauptrolle bei der Entwicklung spielen, so will ich zunächst die Bildung dieser Nucleoli angeben. Dabei möchte ich die ganze Entwicklungsgeschichte in drei Stadien teilen: 1. Die Entwicklung der Nucleoli und der Ursprung der Sporen bis zur Bildung des Blastodermstadiums; 2. Die Wanderung der Sporen nach dem Centrum und die Bildung der acht Chromatinkörner; 3. Die Entwicklung der spindelförmigen Keime.

1. Die Entwicklung der Nucleoli und der Ursprung der Sporen bis zur Bildung des Blastodermstadiums.

Bei den jüngsten Cleps., welche an den Epithelzellen des Darmes zu finden sind (Fig. 1 und 19), ist der Kern in der Nähe des hinteren Endes gelegen und verhältnismässig gross; auch enthält er nur einen einzigen grossen, dunkel gefärbten Nucleolus, der sich aber nach kurzer Zeit verändert, sodass wir im nächsten Stadium entweder einen grossen und zwei bis drei kleinere (Fig. 2), oder vier bis fünf von gleicher Grösse erblicken (Fig. 3). Die Bildung dieser Nucleoli lässt sich ihrer geringen Grösse wegen schwer verfolgen. Aber so viel ist sicher, dass sie entweder durch einen Knospungsprocess entstehen, oder sich im Inneren des ersten grösseren Nucleolus entwickeln. Der letztere Vorgang ist jedenfalls der wahrscheinlichere, da derselbe auch bei der späteren Entwicklung der Nucleoli die Regel ist. Das Stadium, in dem der Kern einen einzigen Nucleolus enthält, habe ich nur bei den kleinsten Clepsidrina vorgefunden, dagegen hatten schon die Individuen, die nur ein wenig grösser waren, stets mehrere Nucleoli.

Die Nucleoli vergrössern sich also mit dem Wachstum der Gregarinen und ihrer Kerne; später tritt eine Vermehrung ihrer Zahl ein. Wenn sich die Gregarinen ungefähr um das Dreifache dem Stadium gegenüber vergrössert haben, in dem man sie zuerst entweder fest an den Epithelzellen oder frei im Darne vorfindet (es giebt keine bestimmte Grösse, bei der unsere Gregarine die Epithelzellen verlässt), und der Kern 0,2 mm im Durchschnitt misst, finden wir, dass derselbe entweder einen grösseren Nucleolus und zwei oder drei kleinere in nächster Nähe enthält, oder zwei grössere und einen oder zwei kleinere. Von nun an ist die Entwicklung der Nucleoli nicht mehr sehr verschieden von der, welche schon

Schneider¹⁾ bei *Klossia octopiana* beschrieben hat. Bei *Klossia* besteht der grösste Nucleolus aus zwei Schichten; die äussere Rinde ist dunkel und ziemlich dick, mit einem hellen hyalinen Inhalt. Aus diesem letzteren bilden sich die zahlreichen Nucleoli, die dann durch eine Art Mikropyle nach aussen treten. Stuart²⁾ beobachtete bei seinem *Zygocystis pterotracheae*, dass während der Conjugation viele Nucleoli vorhanden waren, während sich vorher nur ein einziger vorfand. „Die vielen“, sagte er, „sind offenbar Teilungsproducte des grossen Nucleolus“. Bei *Cleps.* zeigt keiner der Nucleoli eine Schichtung oder Mikropyle, aber doch bilden sich die meisten der vielen Nucleoli, welche zu Beginn der Encystirung vorhanden sind, im Inneren der ersten Kernkörperchen.

Dieses letztere Stadium, bei dem drei bis fünf Nucleoli vorhanden sind, von welchen einer oder zwei eine bedeutendere Grösse besitzen, ist der Anfang einer schnellen Vermehrung der Nucleoli, welche bis zur Cystenbildung währt. In der Regel ist nur ein solcher Formationsnucleolus vorhanden (Fig. 4), doch haben sehr oft auch zwei oder drei das Vermögen, diese Rolle zu spielen (Fig. 5). Im Inneren dieses Formationsnucleolus erscheinen dann klare runde Ballen von verschiedener Grösse, welche keine bestimmte Lage haben. Sie sind in wechselnder Zahl vorhanden und etwas heller, als die übrige Masse des Nucleolus. Bei vielen Formationsnucleoli, welche ich zu beobachten Gelegenheit hatte, waren alle Stadien der Entwicklung zu finden; kleine und grössere Ballen im Inneren, und einige, die schon halb nach aussen getreten waren (Fig. 4). Nachdem sie den Formationsnucleolus verlassen haben, wenden sie sich alle nach ein- und derselben Seite des Kerns, an der sie als dunkel gefärbte Nucleoli liegen bleiben. Sie können sich auf zwei verschiedene Weisen anordnen. Entweder liegen sie alle dicht beieinander (Fig. 6), oder sie reihen sich in eine spiralige Linie zusammen (Fig. 7). Die Vermehrung dauert bis zum Beginn der Cystenbildung fort, und dann sind die Nucleoli stets nach einer der zwei angegebenen Formen geordnet. Die spiralige Lagerung hat schon v. Siebold (l. c.) beobachtet und abgebildet, und Wolters (l. c.) hat sie als die häufigere der zwei Formen bezeichnet; mir ist jedoch die erstere Anordnung viel öfter vorgekommen.

Diese zwei verschiedenen Anordnungen der Nucleoli brachten mich zunächst auf die Vermutung, dass die Cysten vielleicht aus zwei Gregarinen gebildet würden, deren eine die spiralige, deren andere die Gruppenanordnung besässe. Obgleich ich nun diese beiden öfters bei conjugirte Gregarinen gefunden habe, so waren die mit gleicher Anordnung der Nucleoli doch häufiger. Nach der Encystirung veränderten sich diese Anordnungen sehr rasch, sodass die Nucleoligruppierungen bei den Schnitten durch Cysten nicht zu bemerken sind. Am Anfang der Encystirung enthält jeder Kern

¹⁾ Archiv. de zool. exp. et génér. 1883.

²⁾ Bull. de l'Acad. Impér. des sciences de St. Péters. Bd. XV.

etwa 25—40 deutlich erkennbare Nucleoli, welche bald in dieser, bald in jener Art angeordnet sind. In beiden Fällen liegt der jetzt unregelmässig gestaltete Formationsnucleolus der von ihm ausgegangenen Gruppe gegenüber. Derselbe ist jetzt kleiner und nicht mehr so thätig als früher, doch zeigt er noch Ballen im Inneren; auch sind in der Nähe desselben neugebildete Nucleoli zu sehen, welche zu den andern den Übergang bilden (Fig. 6fn.). Seine Lage steht in keiner Beziehung zu der Achse der Gregarinen.

Während der Bildung der Cyste geht mit den Nucleoli eine grosse Veränderung vor sich, indem sie nämlich ihre frühere Stelle verlassen und ihre Zahl sehr rasch zu vermehren beginnen. Die Vermehrung geht jetzt nicht mehr im Inneren des Formationsnucleolus vor sich, sondern jeder der Nucleoli verkleinert sich durch wiederholte Knospung, und zerfällt schliesslich in eine Anzahl Stücke chromatischer Substanz, welche sich über den ganzen Körper verbreiten. Wenn diese Zahlvermehrung der chromatischen Substanz zur Hälfte vor sich gegangen ist, verliert der Kern seine Membran, sendet Pseudopodien aus und bildet das, was Wolters „geflamten Kern“ benannt hat (Fig. 8). Er hat diesen „geflamten Kern“ schon vor der Encystirung gesehen; ich habe ihn jedoch in diesem Stadium nie gefunden. Bei denjenigen Clepsidrina, welche ich in Flemming'scher Lösung conservierte, habe ich Kerne mit einer unregelmässigen Membran gefunden; bei solchen, die ich aber mit anderen Reagentien behandelte, war letztere nicht zu bemerken. Im weiteren Verlauf der Entwicklung löst sich der ganze Kern in ein System von pseudopodienartigen Bruchstücken auf, die sich immer weiter von einander trennen und nach der Peripherie auseinander weichen (Fig. 8). Jeder dieser Teile enthält chromatische Substanz, die aus den früheren Nucleoli hervorgegangen ist, welche ihre Zahl während des oben geschilderten Vorganges unausgesetzt vermehrt haben, und jetzt zugleich als Chromatinkörner bezeichnet werden. Kurze Zeit, nachdem diese die Peripherie erreicht haben, ist die Vermehrung abgeschlossen. Sie breiten sich nun auf der gesamten Oberfläche jeder der beiden encystirten Gregarinen aus. Die Begrenzungsfläche des früheren Proto- und Deutomerits hat sich schon vorher in eine Anzahl kleiner Stücke aufgelöst und ist nicht mehr vorhanden. Jedes Chromatinkorn bildet nun eine Hülle um sich, nachdem es sich vorher mit einer Schicht Plasma umgeben hat. Auf diese Weise vollzieht sich die Bildung der jungen Sporen (Fig. 10). Dass dieses Plasma ein Teil des alten Kernes ist, durch welchen die chromatische Substanz nach der Peripherie übertragen wurde, ist sehr wahrscheinlich. Freilich habe ich an einzelnen Schnitten von Cysten (nach der Färbung) auch an der Oberfläche eine Schicht hellgefärbten Plasmas gesehen, auf welcher Schicht sich der Kern mit der chromatischen Substanz ausbreitete. Hiernach könnte das Plasma der jungen Spore auch durch Vermischung der oben genannten Schicht mit dem Plasma des Nucleolus entstanden sein. Die junge Spore ist fast kugelig und enthält ein Chromtin-

korn, das seitlich in einem hellen Raume gelegen ist (Fig. 11). Kurze Zeit, nachdem die Spore gebildet ist, nimmt dieses Chromatinkorn die Gestalt einer 8 an und teilt sich in zwei Hälften, die beide an die entgegengesetzten Seiten der Spore treten (Fig. 12). Während das erste Chromatinkorn aus einem Knospungsprocess der früheren Nucleoli entstanden, sind diese zwei das Resultat einer direkten Teilung. Karyokinetische Figuren waren nicht zu beobachten. Einen etwas ähnlichen Vorgang hat auch Schneider in der ersten Teilung der zahlreichen Kerne bei *Klossia* beobachtet.

Vor und während dieser Teilung ordnen sich die Sporen in eine regelmässige Schicht auf der Oberfläche jeder der zwei encystirten Cleps. Oft geschieht es, dass sich zu viele Sporen bilden, als dass alle in einer Schicht Platz finden könnten, und dann liegen die übrigbleibenden innerlich derselben an. Die Cyste ist jetzt einem Insektenblastoderm sehr ähnlich, oder richtiger gesagt, zwei von einer gemeinsamen Hülle umschlossenen Blastodermen, sodass das betreffende Stadium bezeichnet werden könnte als Blastodermstadium. Bruch¹⁾ und Bütschli (l. c.) haben die Cyste in diesem Stadium schon mit dem Blastoderm eines Insekteneies verglichen, und ich glaube, dass nach der hier geschilderten Entwicklung, die beiden Beobachtern fremd war, dieser Vergleich noch viel berechtigter erscheint. Die Cyste besteht wie das Insektenei aus Nährsubstanz, die von einer oder mehreren Hüllen umgeben ist. Die dünne Plasmaschicht, welche ich zu verschiedenen Malen auf der Oberfläche gefunden habe, wird im Insektenei durch das Keimhautblastem dargestellt. Die Furchungszellen des Insekteneies, welche zuerst in der Nähe des Centrums gelegen sind, teilen sich und wandern zur Peripherie, wo sie das Ei mit einer Schicht Zellen überziehen und das Blastoderm bilden. Ebenso zerfällt die chromatische Substanz (die Nucleoli) der Gregarinen durch einen Knospungsprocess in eine Anzahl kleiner Stücke, welche mit einem Teilstücke des Kernes nach der Peripherie übergehen und sich hier auf der Oberfläche zu einer Schicht junger Sporen ausbreiten. Die Vermehrung der einen sowohl als der andern geht während des Überganges nach der Peripherie ununterbrochen vor sich. Die Dotterzellen des Insekteneies²⁾ „deren Aufgabe es ist, Nahrungsdottermasse zu verflüssigen und der Assimilation entgegen zu führen“ sind in unserer Cyste nicht vorhanden, doch geht die Verflüssigung hier ebenfalls vor sich.

2. Die Wanderung der Sporen zum Centrum und die Formation der acht Chromatinkörner.

Am Ende des letzten Stadiums war die Trennungslinie zwischen den zwei encystirten Cleps. deutlich zu erkennen, und jedes der zwei Tiere war auf der Oberfläche mit den jungen Sporen bedeckt.

¹⁾ Zeit. f. Wiss. Zool. 1850. p. 110—114.

²⁾ Korschelt und Heider. Lehrbuch der vergleichenden Entwicklungsgeschichte der wirbellosen Tiere. 2. Heft. Jena 1891.

Jede Spore bestand aus einer, von einer dünnen Hülle umschlossenen Plasmamasse, und enthielt jetzt zwei Chromatinkörner. Die Sporen vergrösserten sich hierauf und nahmen dabei eine ovale Gestalt an.

Nachdem alle Sporen diese ovale Gestalt erreicht haben, verlassen sie ihre peripherische Lage und fangen an, wieder nach innen zu wandern, wobei sie sich in mehrere Gruppen anordnen (Fig. 10c). Zugleich mit dem Beginn dieser Lagenveränderung geht auch das Verschwinden der Trennungsfläche zwischen den encystierten Tieren vor sich. Auch ist schon während des vorigen Stadiums an Schnitten zu bemerken, dass hier und da die Begrenzungsfläche in eine Anzahl kleiner Stücke zerfallen ist, welche sich vermutlich in der Plasmamasse auflösen. Noch ehe die Zusammenballung der Sporen aber vollendet ist, ist die Trennungsfläche vollständig verschwunden. Die zwei Chromatinkörner jeder Spore haben sich etwas vergrössert, und es teilt sich jedes gleich nach dem Beginn der Sporenwanderung (Fig. 13). Bei dieser zweiten Teilung ist, wie bei der ersteren, die Teilungsachse senkrecht zur Längsachse der Spore. Alle vier Chromatinkörner liegen nun an dem einen Ende der ovalen Spore in einer Ebene, die Ecken eines Quadrates bildend.

Noch bevor jedoch die definitive Gruppierung der Sporen vollendet ist, teilt sich jedes dieser vier Chromatinkörner nochmals (Fig. 14). Ist die Teilung geschehen, dann wandern die vier neugebildeten Körner nach dem entgegengesetzten Ende der Spore, so dass jetzt die acht Chromatinkörner die Ecken eines quadratischen Prismas darstellen. Diesmal ist jedoch die Achse der Teilung parallel der Sporenachse. Alle Teilungen der Chromatinkörner geschehen in derselben Weise, die ich bei der ersten erwähnt habe.

Nach Ablauf aller der eben geschilderten Entwicklungsvorgänge nehmen die Chromatinkörner je die Gestalt eines Ovoids mit abgestumpfter Spitze an, dessen Achse parallel der Sporenachse geht. Anfangs liegen die Sporen selbst unregelmässig im Innern der Cyste, allmählig aber nehmen sie zunächst in den peripherischen Schichten eine regelmässige Lagerung an, indem ihre Längsachsen sich in der Cyste radiär stellen. Allmählig schreitet diese Anordnung auch nach dem Centrum vor. Schon Wolters hat dieses letzte Stadium, das durch die regelmässige Gruppierung der Sporen sich charakterisiert, abgebildet, die Entwicklung derselben aber nicht verfolgt.

3. Die Entwicklung der spindelförmigen Keime.

Nachdem sich in der eben angedeuteten Weise die Sporen angeordnet haben, ist an ihnen bei äusserlicher Betrachtung am lebenden Objekte fortan keine weitere Veränderung wahrzunehmen. Erst bei Anwendung geeigneter Methoden findet man, dass die Entwicklung auch im Inneren noch weiter ihren Ausdruck findet.

Bei gewissen Gregarinen, deren Entwicklungsgeschichte bekannt ist, bilden sich im Innern der Sporen spindel- oder sichelförmige Keime, welche nach ihrem Ausschlüpfen zu jungen Gregarinen

werden. Bei einigen dieser Keime wurden auch oblonge Kerne, welche chromatische Substanz enthielten, beobachtet. Nach der Darstellung Bütschli's würden jedoch die Sporen der *Cl. blattarum* dieser spindelförmigen Keime entbehren. Ich habe mich indessen überzeugt, dass die Abbildungen Bütschli's Sporen darstellen, die ihre Entwicklung noch nicht vollendet haben. Die von demselben darin gezeichnete Centralmasse ist nur Nährsubstanz, während die acht Chromatinkörner, welche auf diesem Stadium noch vorhanden sind, und ohne Anwendung geeigneter Färbemethoden kaum nachzuweisen sein dürften, vollständig übersehen wurden. Hat man aber diese Färbemittel (Eau de Javelle, Hämatoxylin) hinreichend lange einwirken lassen, dann erkennt man auch bei unserer Form in den reifen Sporen je acht spindelförmige Keime, deren jeder eines der Chromatinkörner in sich einschliesst.

Wie ich schon oben erwähnte, ist das erste Chromatinkorn ein Teil der chromatischen Substanz der encystirten Cleps.; die späteren acht sind durch Teilung dieses ursprünglicheren Kornes hervorgegangen, und ebenso bildet nun jedes derselben wieder die erste chromatische Substanz der Keime, resp. der jungen Gregarine.

Die spindelförmigen Keime werden erst nach zwei- bis dreitägiger Behandlung mit Grübler's Flemming'scher Lösung sichtbar, doch sind in derartigen Präparaten die Chromatinkörner, die auf früheren Stadien an gefärbten Schnitten sehr deutlich hervortraten, nicht mehr zu sehen. Um letztere hervortreten zu lassen, muss man die Sporen vor der Anwendung der Flemming'schen Lösung zwei bis drei Stunden mit warmem Eau de Javelle behandeln, und nach der Einwirkung der Flemming'schen Lösung noch zwei bis drei Tage mit Hämatoxylin färben. In denjenigen Präparaten, welche ich nach dieser Methode anfertigte, waren meist mehrere Entwicklungsstadien zu beobachten. In vielen Sporen waren schon alle acht Keime entwickelt, in anderen dagegen nur zwei oder drei. Die Entwicklung der Keime geht in der Weise vor sich, dass sich an der nach innen zu gelegenen Seite um das Chromatinkorn die zur Bildung erforderliche Plasmamasse ansammelt. Der Abschluss dieses Vorganges findet statt, wenn der Keim ungefähr zwei Drittel der Länge der Spore erreicht hat (Fig. 17). Die grosse Masse Nährsubstanz, welche zuerst jede der Sporen enthielt — so gross, dass sie dieselbe fast vollständig ausfüllte — ist jetzt entweder ganz verschwunden oder nur noch als ein kleiner Ballen zu bemerken. Die Gestalt dieser Keime, die so verschieden von der der jungen Cleps. ist, erklärt sich wohl daraus, dass bei der geringen Grösse und der länglichen Form der Sporen (auch wohl wegen des lange bestehenden bleibenden Ballens der Nährsubstanz) die Spindelform für die Lagerung einer grösseren Anzahl von Keimen die günstigste ist. Dass diese ausserhalb der Sporen nicht lange Zeit spindelförmig bleiben, ersieht man daraus, dass sie sich fünf bis sechs Tage nach der Verfütterung in den Schaben als ovale oder kugelige junge Cleps. an den Epithelzellen des Darmes finden. Um bei den

Fütterungsversuchen sicher zu gehen, hielt ich die Schaben mehrere Tage lang einzeln in kleinen Gläschen und entfernte sorgfältig alle Excremente, um eine Selbstinficierung möglichst auszuschliessen. Will man die jungen Cleps. in kurzer Zeit zur Entwicklung bringen, dann empfiehlt es sich, die Schaben vor der Fütterung hungern zu lassen. Werden die Cysten an solche Schaben verfüttert, deren Kropf gefüllt ist, dann bleiben sie meist längere Zeit mit der Nahrung in demselben, und die Folge davon ist eine viel längere Incubationszeit, da sich die Keime erst im Chylusdarm zu jungen Cl. ausbilden. In künstlich hergestellten Lösungen geht die Entwicklung der Keime nicht vor sich. Aus dem, was ich über die Metamorphose der Keime gesehen habe, glaube ich schliessen zu dürfen, dass die ovale oder kugelige Gestalt erlangt wird, während dieselben frei im Chylusdarme liegen, eine Anheftung an die Epithelzellen aber erst später stattfindet.

Wenn die Gregarinen sich zur Encystierung anschicken, dann ist der innere Raum derselben mit Ausnahme des Kernes völlig von einer körnigen Nährsubstanz erfüllt. Die Granula sind ziemlich gross, aber sie verkleinern sich während der Entwicklung, wobei ihre Masse mehr und mehr schwindet.

Wie früher erwähnt wurde, ist jede Cyste aus zwei Cleps. gebildet, ein Umstand der ohne Zweifel für den Vorgang der Sporulation von Bedeutung ist. Solange die cuticulare Scheidewand besteht, kann freilich eine Vermischung des Plasmas beider Tiere nicht wohl stattfinden, und diese Scheidewand scheint, nach dem Aussehen frischer Cysten, sogar noch nach vollständiger Entwicklung der jungen Sporen unverändert vorhanden zu sein. An Schnitten aber erkennt man, dass dies nicht mehr der Fall ist, denn die Begrenzungsfläche der beiden Ballen ist auf diesem Stadium, wie dies früher schon für die Trennungsfläche von Proto- und Deutomerit angegeben wurde, in eine Anzahl kleiner Stücke aufgelöst, deren Zwischenräume einem Übergange gewisser Substanzen von dem einen Individuum in das andere keine weiteren Hindernisse in den Weg legen.

Was nun die weiteren Schicksale der eingewanderten Gregarinen betrifft, so muss ich zunächst bemerken, dass ich nicht mit Wolters übereinstimmen kann, wenn dieser eine „grosse Anzahl gelblichbrauner homogener Gebilde“, welche er im Innern der Epithelzellen des Schabendarmes fand, als Entwicklungsstadien unserer Parasiten in Anspruch nimmt. Ähnliches freilich berichtet Schneider für andere Gregarinen, und ebenso hat auch Pfeiffer¹⁾ über die Infection der Insektenzellen durch Gregarinen derartige Beobachtungen gemacht. Ich habe nun freilich nicht dieselben Tiere untersucht, wie die zwei letztgenannten Beobachter, aber ich bin durch meine Untersuchungen zu der Überzeugung gekommen, dass sich bei Cl. blattarum niemals ein normales Entwicklungsstadium

¹⁾ Die Protozoen als Krankheitserreger. 2. Auflage. Jena 1891.

vollständig im Innern einer Darmzelle vorfindet. Anfangs sind die jungen Cleps. allerdings ziemlich tief in die Epithelzellen eingesenkt und oft eine lange Zeit damit in Zusammenhang; aber eine Überwucherung durch die Epithelzellen oder ein Einwachsen in dieselben findet nie statt. Wohl habe ich oft fremde Gebilde im Innern der Darmzellen gefunden, aber ich kann dieselben unmöglich für junge Gregarinen halten. Die jungen Cleps. sind wegen ihrer Beschaffenheit und Gestalt leicht zu erkennen; sie sind nicht bloss kugelig oder oval mit einer Granularmasse im Inneren, sondern enthalten auch regelmässig einen oder mehrere Nucleoli, welche nach Färbung und Auswaschen mit Säure-Alkohol ihre dunkle Farbe beibehalten. Die fremden Gebilde dagegen waren mehr homogen gefärbt, besaßen keine Granularinhaltsmasse, und hatten einen oder mehrere durchsichtige Ballen im Innern. Überdies finden sich diese Gebilde sehr oft auch frei im Darmlumen. Ich habe allen Grund zu der Annahme, dass wir es hier nicht mit Gregarinen, sondern mit Pilzen (Saccharomycetes) zu thun haben. Dafür spricht nicht bloss ihr Verhalten gegen Färbemittel und das Auftreten der durchsichtigen Ballen, sondern weiter auch die Thatsache, dass die Pilze im Knospungsstadium vielfach eine grosse Ähnlichkeit mit jungen, schon in Proto- und Deutomerit getheilten Clepsidriden besitzen. Von diesem Standpunkte aus möchte ich einige Abbildungen von Pfeiffer und Wolters beurteilen, welche Gregarinen im Innern der Epithelzellen der Insekten darstellen sollen.

Bei dieser Gelegenheit darf ich auch wohl eine Bemerkung von Wolters (l. c. p. 101) anziehen, die folgendermassen lautet: „R. Pfeiffer (Berlin) trat gelegentlich der Demonstrationen im Hygienischen Institut für einen doppelten Kern bei Polycystideen ein, von denen der eine sogar im Protomerit liegen sollte.“

Wolters selbst scheint dieser Angabe, die übrigens auch schon früher einmal von anderer Seite (Brass) gemacht ist, kein besonderes Vertrauen zu schenken, denn er erklärt später, dass dieser zweite Kern nur eine der „eigenthümlichen Zeichnungen“ sei, welche er im Protomerit nach dem Beginn der Bildung des geflammten Kernes vorfand. Weitere Mittheilungen über Pfeiffer's Demonstration konnte ich nicht finden; aber es erscheint nicht unmöglich, dass er unsere Cl. vor sich gehabt hat.

Im Gegensatz zu dieser Angabe stimme ich jedoch mit der Ansicht Stein's überein, dass „der Kern bei den Gregarinarien niemals in die Kopfhöhle tritt“. Auch bin ich ganz sicher, dass Cl. blatt. nur einen Kern enthält, welcher immer im Deutomerit gelegen ist. Als ich begann dieses Tier zu untersuchen, glaubte ich allerdings bei einigen meiner Präparate einen zweiten Kern im Protomerit gesehen zu haben. Später fand ich an Schnitten dasselbe Gebilde, oft sogar deren zwei oder drei im Protomerit. Gleichzeitig aber wurde ich über dessen wahre Natur aufgeklärt. Frenzel¹⁾

¹⁾ Über einige in Seetieren lebende Gregarinen. Archiv f. mikroskop. Anat. Bd. XXIV.

bildet im Protomerit seiner Gregarina salpae mehrere grosse „Fettkugeln“ ab; und auch bei unserer Gregarine sind diese kernartigen Gebilde im Protomerit nichts als kuglige Ballen Nährsubstanz. Ist nur ein solcher Ballen vorhanden, so sieht er bei äusserlicher Betrachtung einem Kern sehr ähnlich; aber in Schnitten erscheint er stets klar und immer ungefärbt (Fig. 21), während der Kern ausnahmslos Granularplasma und einen oder mehrere Nucleoli enthält.

Da die Sporodukte schon von Bütschli sehr genau beschrieben worden sind, habe ich darüber nichts neues mitzuteilen. Ihre Entwicklung beginnt kurz nachdem die Sporen das Innere der Cyste erreicht haben. Sie erscheinen zuerst als Röhren, die von den Sporen nach der äusseren Fläche der Cystenöhle gehen. In diesem Stadium verharren sie, bis die Cysten in eine feuchte Kammer gebracht oder an Schaben verfüttert werden, worauf dann ihr schnelles Wachstum beginnt.

Cuticula. Bei meinem Studium der *Cl. blattarum* hatte ich Gelegenheit die Cuticula zu untersuchen und obgleich ich nicht viel neues darüber mitteilen kann, so möchte ich doch meine Beobachtungen über dieselbe hier anfügen. Wohl bei keiner anderen Gregarine erreicht die Cuticula eine so starke Entwicklung wie bei den grösseren Individuen unserer *Cl.* Bei den jungen Tieren ist sie sehr dünn, aber später erlangt sie eine ganz auffällige Dicke und setzt sich dann aus zwei bis vier Schichten zusammen. Nach Auspressung der Inhaltsmasse sind die breiten Längsfibrillen und die schmäleren Längsrippen sehr deutlich zu erkennen. Auch habe ich einige Male eine Querstreifung beobachtet; doch will ich hierauf erst später eingehen und wende mich jetzt der Cuticula selbst zu.

Diese umschliesst die ganze Cleps. in gleichmässiger Dicke mit Ausnahme derjenigen Stelle, wo Proto- und Deutomerit aneinander liegen, und am Vorderende. An diesen beiden Stellen erlangt sie eine grössere Mächtigkeit. Am vorderen Ende, wo die Cuticula oft das Dreifache ihrer gewöhnlichen Dicke erreicht, findet sich in der Regel eine becherähnliche Einsenkung, welche wahrscheinlich eine Rolle bei der Befestigung zweier Tiere an einander spielt. Die Cysten-cuticula ist viel dicker als die der Gregarine und aus vielen homogenen durchsichtigen Schichten einer festen Substanz gebildet. Bei gerissenen Cysten ist eine tuchartige Struktur der Cuticula zu bemerken, welche den äusseren Schichten angehört (Fig. 23). Die Gallerthülle, deren Dicke dem Durchmesser der Cyste gleich kommt, ist homogen und ohne Schichtung.

Längsrippen. Diese gehören der äusserlichen Cuticulaschicht an und liegen in grosser Anzahl parallel neben einander; oft sind sie im Querschnitt sehr deutlich (Wolters l. c. Taf. VIII Fig. 1) zu bemerken. Viele dieser Rippen gehen vom vordern bis zum hintern Ende des Tieres, während andere nur allein auf das Deutomerit beschränkt sind. Wegen des bedeutenden Durchmessers des Deu-

tomerit sind sie hier auch zahlreicher als am Protomerit. Bei lebenden Individuen sind diese Rippen am deutlichsten über dem Kern zu erkennen. An diese Stelle bemerkt man auch zuweilen schwache Querstreifen, die jedoch im Längsschnitt der Cuticula nicht nachweisbar sind.

Längsfibrillen. Schon v. Siebold (l. c.) hat die Beobachtung gemacht, dass unsere Cleps. ausser der langsamen Vorwärtsbewegung auch eine Zusammenziehung des Körpers vornimmt, und dass dann deutliche Längslinien auf demselben zu erkennen sind. Auch Leidy (l. c.) hat dieselben gesehen und „muscular striae“ genannt; und später haben noch mehrere Beobachter sie beschrieben. Sie sind ziemlich deutlich zu erkennen, am besten allerdings, wenn die Inhaltsmasse ausgepresst ist und dann eine schwache Safraninfärbung angewendet wird. Jede Fibrille besteht aus zwei Bändern, welche parallel zu einander liegen und durch einen hellen Streifen von einander getrennt werden, der wahrscheinlich von der durchschimmernden Cuticula herrührt (Fig. 22). Die Streifen verlaufen nicht wie die Längsrippen von einem Ende des Tieres zum anderen; ihre Länge beträgt vielmehr nur ein Drittel oder ein Viertel des Längsdurchmessers, obwohl die ganze Cleps. von ihnen bedeckt ist. Am Deutomerit sind sie häufiger, als am Protomerit. Im Querschnitt sind diese Längsfibrillen nicht zu bemerken, und es ist daher nicht mit Sicherheit zu sagen, welcher Schicht der Cuticula sie angehören. Bei Betrachtung des lebenden Tieres liegen sie stets unter den Längsrippen.

Die Bewegung unserer Cleps. ist der Hauptsache nach, nur eine langsame Vorwärtsbewegung; eine Krümmung ist nur selten zu bemerken, öfters noch eine Zusammenziehung. Es ist mir sehr wahrscheinlich, dass die eben erwähnten Fibrillen, wie andere Beobachter bereits vermutet haben, muskulöser Natur sind. Bei Bothriopsis Schn. ist das Protomerit sehr frei beweglich, und hier erreichen die Längsfibrillen eine sehr merkwürdige Entwicklung. Ich habe oft gefunden, dass in der Nähe der Grenze zwischen den zwei Teilen dieses Tieres, wo die Bewegung am energischsten vor sich geht, die Längsfibrillen häufiger und dreimal so breit sind als an den übrigen Teilen des Körpers.

In verschiedenen Arbeiten finden sich Angaben über Gregarinen mit zwei Kernen, doch wird dies in der Beschreibung nie als regelmässiges Vorkommen angegeben. Kölliker¹⁾ war der erste, der die Einzelligkeit dieser Tiere behauptete, und gegenwärtig ist diese Ansicht, die zuerst sehr bestritten wurde, von der Mehrzahl anerkannt. Das Vorkommen von zwei Kernen wird als abnorm be-

¹⁾ Die Lehre von der tierischen Zelle. Schleiden und Nägelis Zeit. f. wiss. Botanik. 1845.

zeichnet, und viele der Beschreibungen eines zweiten Kernes sind sehr fraglich.

Hammerschmidt ¹⁾ hat unter sieben Abbildungen von *Pyxinia rubecula* vier mit schwarzem Flecke in dem Proto und im Deutomerit gezeichnet, in der Beschreibung aber das Vorkommen von zwei Kernen (Bläschen) nicht erwähnt. Ebenso hat Frantzius ²⁾ in einer seiner Abbildungen der *Greg. Heerii* in jedem Teil einen Kern gezeichnet, obgleich Kölliker in seiner Beschreibung dieser Art nur einen angiebt. Leidy ³⁾ beschrieb in einer Abhandlung über mehrere neue Arten zwei (*Greg. Juli marginati* und *Greg. polydesmi virginienensis*) mit zwei Kernen, die beide im Deutomerit liegen und von ungleicher Beschaffenheit sein sollten. Die einen waren rund und hell mit einer Anzahl Nucleoli, die anderen oval und dunkler. D'Udekem ⁴⁾ hat eine Abbildung der *Monocystis* des Regenwurms mit zwei Kernen gegeben, während Andere, die über diese *Greg.* gearbeitet, nichts davon erwähnt haben. Kölliker ⁵⁾ selbst gab an, dass er ein paarmal in seiner *Greg. terebellae* zwei Kerne gefunden habe, beide in einem und demselben Teil, und in seiner *Greg. sipunculi* beobachtete er in zwei Fällen ebenfalls zwei Kerne. Bei *Greg. holothuriae* hat Anton Schneider ⁶⁾ gleichfalls über das Vorhandensein zweier Kerne geschrieben, doch macht es den Eindruck, als habe er eine Cyste vor sich gehabt. Auch Aimé Schneider ⁷⁾ hat bei *Porospora gigantea* mehrere Mal zwei Kerne gesehen. Brass ⁸⁾ hat den Versuch gemacht einen zweiten Kern bei *Cl. polymorpha* nachzuweisen, doch glaube ich, dass das, was er für einen zweiten Kern in dem Protomerit hält, nur jene Kugel von Nährsubstanz ist, über welche ich schon bei *Cl. blattarum* gesprochen habe.

Aus diesen wenigen Angaben ist zu ersehen, dass das Vorhandensein von zwei Kernen nicht neu ist, obgleich ich glaube, dass in den meisten, wenn auch nicht in allen den Fällen, auf welche ich hingewiesen habe, das, was als zweiter Kern beschrieben oder gezeichnet wurde, kein echter Nucleus ist. Die Ursache der Verwechslung liegt jedenfalls in der Unterlassung des Färbens oder der Anwendung ungeeigneter Methoden. Ich

¹⁾ Helminthologische Beiträge. Isis (herausgeg. v. Oken) 1838 pag. 351 bis 358.

²⁾ Observationes quaed. de Gregarinis. Diss. inaug. Berol. 1848.

³⁾ Trans. Am. philos. Soc. 1853 pag. 235—40.

⁴⁾ Mém. cour. et mém. d. sav. étrang. de l'Acad. roy. de Belgique 1856 p. 16—17.

⁵⁾ Beiträge z. Kenntniss niederer Tiere. Zeit. f. wiss. Zool. 1848.

⁶⁾ Ueber einige Parasiten der *Holothuria tubulosa*. Müller's Archiv. 1858.

⁷⁾ Contributions à l'histoire des Grégarines des invertébr. Archives de Zool. expér. et gén. 1875.

⁸⁾ Die Organisation der tierischen Zelle. Halle 1883.

habe schon früher hervorgehoben, dass die Nährkugel im Protomerit sehr leicht als Kern angesehen werden kann; auch ist in mehreren meiner Präparate von *Cl. blattarum* eine dunkel gefärbte Masse im Deutomerit in der Nähe des Kerns zu sehen, welche bei oberflächlicher Betrachtung gleichfalls leicht für ein zweiter Kern gehalten werden könnte. Alle Gregarinen, welche ich untersucht habe, gingen, bald nachdem sie in Hühnereiweiss oder physiologische Kochsalzlösung gebracht waren, zu Grunde. Die Inhaltsmasse veränderte sich hierbei derart, dass darin kleine Körper entstanden, welche Kernen sehr ähnlich waren. Andererseits machen es die karyokinetischen Figuren, welche vor nicht langer Zeit bei Gregarinen gefunden wurden, wahrscheinlich, dass auf gewissen Stadien ihrer Entwicklung in Wirklichkeit (bei jenen Arten, welche sich einzeln encystieren?) zwei Kerne vorhanden sind, doch ist diese Frage bis jetzt erst wenig ventilirt worden.

Unter den oben von mir aufgezählten Beobachtungen über zweikernige Gregarinen habe ich einen Fall unerwähnt gelassen, den ich jetzt nachträglich hier anziehe. Er ist der einzige, in dem bei einer Gregarine regelmässig und normal zwei Kerne gefunden werden.

Als ich im Laufe des verflossenen Sommers verschiedene Insekten auf Gregarinen untersuchte, fand ich im Darm mehrerer *Aphodius*-arten eine Form, welche so eigentümlich war, dass ich sie anfangs für den Repräsentanten eines neuen Genus hielt. Später fand ich jedoch, dass sie zu Stein's bisher wenig beachteter Gattung *Didymophyes*¹⁾ gehört, übereinstimmend mit dieser in der Teilung des Deutomerits in zwei Teile, von denen jeder mit einem Kern versehen ist. Stein's zwei Arten sind in ihrer Gestalt sehr verschieden; die eine, *D. paradoxa*, ist kurz und dick und nach seiner Beschreibung oft mit zwei Kernen versehen, die andere, *D. gigantea*, dagegen lang und dünn und, wie Stein angiebt, ganz ohne Kern. Bei derjenigen Art, welche ich gefunden habe, sind Kerne schwer oder garnicht zu sehen, weil der Körper ziemlich dick und braun gefärbt ist. Stein hat bei seiner *D. paradoxa* bald zwei Kerne, bald auch keinen gesehen, wie ich glaube deshalb, weil die Tiere welche er untersuchte, sehr gross und nicht gefärbt waren. Der Kern ist bei allen diesen Arten von runder Form, infolge dessen muss er bei *D. gigantea*, deren Körper sehr schmal ist, ziemlich klein sein, und hieraus erklärt es sich wohl, dass Stein ihn übersehen hat. Stein's beide Arten und die, welche ich fand, gleichen sich darin, dass in ihnen allen das Deutomerit in zwei gleiche Stücke zerfallen ist. Diese Teilung des Deutomerits ist eine Eigentümlichkeit, welche sich bei keiner andern Form findet, und ich glaube daher, dass alle drei einem und demselben Genus zuzurechnen sind, und dass die zwei Kerne bei *D. gigantea*, die nur lebend untersucht wurde, von Stein übersehen sind.

¹⁾ Über die Natur der Greg. Müllers Archiv. 1848.

Die drei Teile von *Didymophyes* stimmen nicht mit den drei Teilen, welche wohl bei anderen Gregarinen vorhanden sind, überein; denn bei dieser Gattung findet sich stets ein Protomerit und ein aus zwei Teilen bestehendes Deutomerit, während ein Epimerit überhaupt nicht vorhanden ist. Es geht das schon daraus hervor, dass der vordere Teil bei *Didymophyes* eben so breit ist, wie die beiden hinteren und mit derselben Inhaltsmasse wie letztere angefüllt. Überdies finden sich alle drei Formen frei im Darne, während das Epimerit als Haftapparat dient und einen Cuticularaufsatz darstellt, der nur wenig Granularsubstanz in sich einschliesst. Aus den hier angeführten Gründen kann der erste Abschnitt von *Didym.* nicht als Epimerit angesehen werden, muss vielmehr als Protomerit gelten. Zur Charakteristik der Arten mag Folgendes dienen.

***Didymophyes* Stein 1848.**

Epimerit fehlt stets. Protomerit breit und kurz. Deutomerit aus zwei fast gleichen Teilen bestehend, jeder (vermutlich überall) mit einem Kerne. Cyste und Sporen unbekannt.

***D. gigantea* Stein.**

Körper lang und schmal. Protomerit ebenso breit, aber viel kürzer, als das Deutomerit. Deutomerit aus zwei fast gleichen Teilen bestehend. Kerne bis jetzt nicht beobachtet (Stein). Cyste und Sporen unbekannt. Habitat: Larve von *Oryctes nasicornis*.

***D. paradoxa* Stein.**

Mässig dick. Protomerit ziemlich gross. Deutomerit aus zwei fast gleichen Teilen bestehend, in denen je (sehr oft) ein Kern beobachtet wurde (Stein). Die Wand zwischen den zwei Teilen des Deutomerits ist nach oben convex. Der zweite Teil des Deutomerits läuft oft in eine abgestumpfte Spitze aus. Cyste und Sporen unbekannt. Habitat: *Geotrupes stercorarius*.

***D. Leuckarti* n. sp.**

Wie die vorige Art, nur dass die Grenz wand zwischen den zwei Teilen des Deutomerits platt ist. Zwei Kerne sind immer vorhanden, einer in jedem Teile des Deutomerits. Sporen unbekannt. Cyste rund mit einem langen Sporoduct(?). Habitat: im Darm verschiedener Aphodien, *A. prodormus*, *A. nitidulus*. Es ist

nicht ohne Interesse, dass die bis jetzt bekannten Arten des Gen. *Didymophyes* sämtlich in blatthornigen Käfern leben.

Diese Greg. fand ich ziemlich häufig im Darm verschiedener Aphodien, welche ich bei Connwitz in der Nähe von Leipzig sammelte. Der Inhalt des Darmes der Aphodien war immer dunkel, so dass die Beobachtung der Parasiten nur nach Übertragung in andere Flüssigkeiten geschehen konnte. Leider aber veränderten sich dieselben in Kochsalz und Eiweisslösung so rasch, dass mir eine Untersuchung nur für kurze Zeit möglich war, ein Verfolgen der Entwicklungsgeschichte aber vollständig ausgeschlossen wurde.

D. Leuckarti (Fig. 24) wächst bis zu einer Länge von 1,12 mm, doch sind kleinere Exemplare von 0,28 mm häufiger. Da letztere auch heller sind, als die grösseren, eignen sie sich natürlich besser zur Untersuchung und besonders zum Auffinden der zwei Kerne. Die grösseren mussten in der Regel erst einer Färbung und besonderen Präparierung unterzogen werden, bevor die Kerne sichtbar wurden; an guten Präparaten aber sind beide stets bestimmt zu sehen. Die Kerne sind beide gleich; jeder ist rund und enthält einen ziemlich grossen runden oder ovalen Nucleolus, welcher immer sehr dunkel gefärbt ist (Fig. 27). Bei den grössten Exemplaren ist die Cuticula ziemlich dick und mit einigen Längsfibrillen versehen. Im Innern des Deutomerits bemerkt man eine Anzahl unregelmässiger kleiner Körper (Fig. 28), welche zwar gefärbt erscheinen, aber nicht so dunkel als der Nucleolus. Sie sind deutlich nur auf Schnitten zu sehen und vorwiegend in der Nähe des Kerns gelegen. Bei der Mehrzahl der grösseren Individuen vorkommend, sind sie neben dem Kern und Kernkörperchen die einzigen Teile, welche gefärbt werden. Ihre Bedeutung ist mir nicht klar geworden. Eine ziemlich kleine und mit einem langen Sporodukt versehene Cyste, welche sich neben den ausgebildeten Individuen im Darne vorfand, ist wahrscheinlich ein Entwicklungsstadium von *Didym.*, doch steht dies nicht absolut fest (Fig. 29). Nach ihrer Grösse zu urteilen, könnte sie möglicherweise die abgetrennte Hälfte eines Deutomerits sein, doch scheint eine solche Auffassung fast ausgeschlossen. Obgleich ich eine grosse Anzahl unserer Greg. zu Gesicht bekommen, so fand ich sie doch niemals in Konjugation. Es ist auch um so wahrscheinlicher, dass jedes Tier selbständig sich encystiert, als jedes ohnehin schon zwei Kerne besitzt.

Als besonders auffallend muss ich zwei Exemplare erwähnen, die darin abweichen, dass bei jedem das Deutomerit in drei, nicht zwei Stücke zerfallen war. Das eine Tier freilich besass eine so geringe Grösse, dass es mir unmöglich war, Kerne darin zu finden; das andere aber war grösser, und bei ihm glaube ich, so lange es lebendig war, in jedem der drei Teile einen Kern bemerkt zu haben. Das Präparat, welches ich davon machte, ist leider missglückt, sodass schliesslich die Kerne überhaupt nicht mehr zu sehen waren. Darüber aber, dass bei den zwei Exemplaren das Deutomerit

je aus drei Stücken bestand, konnte kein Zweifel sein; die Trennungswände waren zwischen allen drei Teilen deutlich sichtbar.

Methoden. Die besten Schnitte, sowie Toto-Präparate erhält man, wenn man ein Stück des infizierten Darmes im Ganzen konserviert. Dieser Teil des Darmes wird dann entweder in Paraffin eingebettet und geschnitten, oder (für Totopräparate) durch Alkohol und Benzol in Canadabalsam übergeführt, worauf die Gregarinen mit einer Nadel leicht zu isolieren sind. Als beste Konservierungsflüssigkeiten erscheinen mir heisses Sublimat und Chromsalpetersäure Perényi, während Flemming'sche Lösung für die Erhaltung der Nuclei nicht günstig ist.

Die Cysten mit ihrer dicken Hülle lassen sich schwerer konservieren; sie platzten anfangs in den meisten Flüssigkeiten, die ich anwandte. Nach Versuchen mit verschiedenen Methoden, die alle mehr oder weniger ungünstige, zum Teil ganz unbrauchbare Resultate lieferten, benutzte ich eine Mischung von kalt gesättigtem heissem Sublimat und kaltem Alkohol absolutus zu gleichen Teilen, die bessere Erfolge lieferte. Wenn die Cysten eine Stunde lang in dieser Flüssigkeit gelegen haben, so werden sie in 50 pCt. Alkohol ausgewaschen, in Paraffin eingebettet, geschnitten, und auf dem Objekträger mit Hämatoxylin, Boraxkarmin, oder Safranin gefärbt.

Erklärung der Abbildungen.

Die Figuren sind mit Ausnahme 9, 10, 15, 22, 23, 28 mit dem Apparat von Zeiss gezeichnet. Zeiss'sche Oculare und Objective.

Gregarina (Clepsidrina) blattarum.

- Fig. 1. Nucleus einer jungen Cl. mit einem einzigen Nucleolus. $\frac{1}{12}$ —3.
 Fig. 2. Nucleus einer jungen Cl., weiteres Entwicklungsstadium mit einem grossen und zwei von diesem gebildeten kleineren Nucleoli. $\frac{1}{12}$ —3.
 Fig. 3. Nucleus einer jungen Cl., ungefähr dasselbe Stadium wie Fig. 2, aber mit vier kleinen Nucleoli. $\frac{1}{12}$ —3.
 Fig. 4. Nucleus in einem späteren Stadium mit nur einem Formationsnucleolus. $\frac{1}{12}$ —2.
 Fig. 5. Nucleus, dasselbe Stadium wie Fig. 4, aber mit mehreren Formationsnucleoli. In den Formationsnucleoli beider sieht man junge Nucleoli. $\frac{1}{12}$ —2.
 Fig. 6. Schnitt durch einen Nucleus mit der Anordnung der Nucleoli zu einer Masse; fn. alter Formationsnucleolus mit neugebildeten Nucleoli in der Nähe, die noch nicht zu den andern übergewandert sind. D. 3.
 Fig. 7. Schnitt durch einen Nucleus desselben Stadiums, aber mit der spiraligen Anordnung der Nucleoli. D. 3.

- Fig. 8. Schnitt durch einen Nucleus einer encystirten Cl. mit Pseudopodien, direkt vor seiner Ueberwanderung zur Peripherie. Der Nucleus ist mit verschieden grossen und kleinen Stücken chromatischer Substanz gefüllt.
- Fig. 9. Teile der chromatischen Substanz viel stärker vergrössert, mit den durch Knospungsprocess entstandenen Chromatinkörnern.
- Fig. 10. Schnitte durch Cysten mit verschiedenen Entwicklungsstadien der Sporen.
- A. Ueberwanderung der chromatischen Substanz. x. An der Peripherie angelangte Theile des Nucleus mit der chromatischen Substanz. y. Dieselben auf der Wanderung.
- B. Der Beginn der Bildung der Sporen an der Peripherie.
- C. sp. Sporen in Ballen angesammelt auf ihrer Rückwanderung nach dem Inneren.
- D. Beginn der Anordnung der Sporen im Innern. sp. Sporen. s. Sporoduct. gr. Schicht granulärer Nährsubstanz.
- Fig. 11. Jüngere Spore mit einem Chromatinkorn. $\frac{1}{12}$ —3.
- Fig. 12. Bildung des zweiten Chromatinkornes. $\frac{1}{12}$ —3.
- Fig. 13. Bildung der vier Chromatinkörner (2. Teilung). $\frac{1}{12}$ —3.
- Fig. 14. Bildung der acht Chromatinkörner (3. Teilung). $\frac{1}{12}$ —3.
- Fig. 15. Lebende Spore mit Nährsubstanz im Innern.
- Fig. 16. Spore mit vollendeter Anordnung der acht Chromatinkörner. $\frac{1}{12}$ —3. lg. Längsschnitt, tr. Querschnitt. $\frac{1}{12}$ —3.
- Fig. 17. Spore mit Beginn der Entwicklung der acht spindelförmigen Keime. $\frac{1}{12}$ —3.
- Fig. 18. Junge Cl. während der Befestigung an einer Epithelzelle. $\frac{1}{12}$ —3.
- Fig. 19. Junge Cl. an der Epithelzelle haftend. $\frac{1}{12}$ —3.
- Fig. 20. Junge Cl. mit Proto- und Deutomerit. $\frac{1}{12}$ —3.
- Fig. 21. Schnitt durch das Protomerit einer Cl. mit Ballen von Nährsubstanz nb, ep. Epithelzellen des Schaben-Darmes mit einem Teil des Epimerits. pm. Protomerit. dm. Deutomerit. D. 3.
- Fig. 22. Längsfibrillen.
- Fig. 23. Teil einer gerissenen Cystenhülle.
- Didymophyes Lenckarti.
- Fig. 24. Erwachsenes Exemplar mit den zwei Nuclei. pm. Protomerit. dm. Deutomerit. D. 3.
- Fig. 25. Junges Exemplar. D. 3.
- Fig. 26. Eines mit dreitheiligem Deutomerit. n. Nucleus. pm. Protomerit. dm. Deutomerit. D. 3.
- Fig. 27. Zwei Nuclei mit Nucleolus. $\frac{1}{12}$ —2.
- Fig. 28. Längsschnitt eines Teiles des Deutomerits mit Nucleus und den eigentlichen Körperchen. $\frac{1}{12}$ —2.
- Fig. 29. Cyste? mit einem langen Sporoduct. D. 2.



ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

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

Jahr/Year: 1893

Band/Volume: [59-1](#)

Autor(en)/Author(s): Marshall William Stanley

Artikel/Article: [Beiträge zur Kenntnis der Gregarinen. 25-44](#)