Nachdruck verboten.
Übersetzungsrecht vorbehalten.

Zur Entwicklung der Gregarinen.

Von

S. Prowazek (Frankfurt a. M.).

(Aus dem Inst. f. experim. Therapie. Leiter: Geh. R. Prof. Dr. P. Ehrlich.)

Hierzu Tafel IX.

Bei der Herstellung einer größeren Serie von Protozoenpräparaten für besondere Vergleichszwecke gelangte ich in den Besitz von zahlreichen Monocystis agilis-Präparaten, die viele Entwicklungsstadien enthielten und abgesehen von diesem äußerlichen Grunde, umsomehr zu einem genaueren Studium der Monocystisentwicklung ermunterten, als gerade in der letzten Zeit die Resultate, der nun schon vor einem Jahrzehnt erschienenen Arbeit von Max Wolters über die „Konjugation und Sporenbildung" bei den Gregarinen angezweifelt wurden und so eine Revision der Fortpflanzungsverhältnisse der Gregarinen dringend notwendig war.

Die Entwicklungsstadien der kleineren Monocystis agilis wurden mehrfach von den Stadien der Monocystis magna entweder garnicht unterschieden oder nicht für sich allein untersucht. Die Monocystis agilis kommt zunächst in den „Spermatogemmen" des Regenwurmhodens vor, die im normalen Zustande auf späteren Entwicklungsstufen der rosettenförmig peripher liegenden Spermatocyten und Spermatiden gegen eine jede derartige Bildungszelle eine feine protoplasmatische Strukturfibrille zur Ausdifferenzierung bringen, so daß diese Strukturen schließlich das Bild der Speichen eines Fahrrades liefern.

Die herauspräparierten Hodenteile wurden teils in der Hermannschen Flüssigkeit, teils in einer gesättigten wässerigen Sublimatlösung, der einige Tropfen Essigsäure zugesetzt wurden, konserviert,

Digitized by Google

sodann in Paraffin eingebettet, geschnitten und teils mit Hämatoxylin und Rubinnachfärbung, teils mit Ehrlich's Triacid und schließlich mit Heidenhain's Eisenhämatoxylin und Orange G. tingiert. Mit Ehrlich's Triacid färbt sich zunächst das Protoplasma der Sporozoiten rot und der Kern bläulichgrün, für feinere Kernstudien eignet sich aber besonders das Eisenhämatoxylin. Gleichzeitig wurden Ausstrichpräparate nach der Ehrlich'schen Methode hergestellt und mit Triacid gefärbt, wobei sich bei den normalen Tieren nächst dem Kern noch einzelne zwischen den länglichen Körnern — die nach Bütschli aus einer amyloidartigen Substanz bestehen und Paraglykogenkörper genannt werden, — liegende Körnchen von unregelmäßiger Gestalt rot färbten, während die eigentlichen Cysten wohl infolge einer Verdichtung ihres sonst sehr leichtflüssigen Inhaltes einen dunkleren, satteren Farbenton annahmen, für den die Ursache zunächst in der physikalischen Änderung des colloidalen Zustandes des Protoplasmas zu suchen ist. Die Kerne, d. h. die zunächst sichtbaren Innenkörper färbten sich gleichfalls rot; farbenanalytisch läßt sich aber derzeit mit diesem Farbengemisch diese Erscheinung nicht auswerten, wie eben auch die Kontroverse bezüglich der Spinndrüsenkerne der Raupen, die zwischen Korschelt und Mewes besteht, beweist. Romanowski's Färbung ergab kein bemerkenswertes Resultat.

Der Kern der Monocystis agalis ist bekanntlich bläschenförmig, besitzt im Leben eine deutlich doppelkonturierte Membran, ein spärliches, peripheres Chromatinnetz und central ein großes, meistens rundliches Gebilde, das wir vorläufig mit dem indifferenten Namen „Innenkörper" bezeichnen wollen; er birgt in sich oft verschieden große Alveolen mit einem zähriqiden Inhalt.

Sobald sich je 2 Tiere in der bekannten mehrfach geschilderten Weise encystiert haben — ein Stadium, auf dem sie sich besonders schön mit Orange G. färben, — zerfällt der Innenkörper in mehrere meist verschieden große Körper, ein Phänomen, das vielfach auch schon knapp vor der Encystierung eintritt. Der Kern, der in der Mehrzahl der Fälle der gemeinsamen Trennungslinie stark genähert ist, nimmt ein mehr oder weniger unregelmäßiges Aussehen an und auf den Totopräparaten kann man die Beobachtung anstellen, daß er sich gleichsam gegen das Centrum der Cyste zu öffnet und etwas von seinem Inhalt in einer unklaren streifigen Form an den Zellleib abgiebt; vielfach schließt sich wiederum die Kernwand und man kann nun auf den Schnittpräparaten neben dem unregelmäßigen Kern mit seinem zerfallenen Innenkörper und den chromatischen Schollen ein

Digitized by Google

von ihm abstammendes „Bläschen“ mit einem dichteren Korn konstatieren. Offenbar ist dieses Gebilde — der allein teilungsfähige Kern — mit dem Mikronucleus Cuénot's oder mit der sog. Centrosphäre, die Mrazek bei einzelnen vermutlich vor der Sporulation stehenden Individuen der Gregarinen der Rhynchelmis beobachtet hatte, zu vergleichen. Solche „Bläschen“ wurden einige Male beobachtet, während der degenerierende Kern abseits erst auf den nächsten Schnitten konstatiert wurde; manchmal war er nur mehr in eine „chromatoide Wolke“ umgewandelt. Dieser Vorgang ist aber im strengeren Sinne nicht als eine Reduktion, deren Begriff doch nur mit Teilungen am indirekten Wege zu verknüpfen ist, aufzufassen, sondern könnte eher mit einer bloß spät erfolgenden Differenzierung des Kernes in einen kleineren mit — kurz ausgedrückt — kinetischen Eigenschaften ausgestatteten, teilungsfähigen Teil und in einen größeren, sonst früher irgendwie der Assimilation vorstehenden Kernteil verglichen werden. Bei den Ciliaten können wir vor der eigentlichen Konjugation auch ein Zugrundegehen des aus einer schon weitgehenderen Differenzierung hervorgegangenen Arbeitskernes — des Großkernes — konstatieren, während der indirekt sich teilende Kleinkern der Reduktion unterliegt und als ein Geschlechtskern die notwendige „geschlechtliche“ Korrektur übernimmt. Bei den Gregarinen ist möglicherweise sekundär die eigentliche Reduktion unterdrückt und ihre Funktion zum Teil von einer Restkörperbildung später übernommen worden.

Auf dem nächsten, von mir aufgefundenem Stadium traten an zwei Stellen des sog. „Kleinkernes“ dunklere Substanzen aus, die bald die Gestalt von dichten, etwas färbbaren Strahlenfiguren (Fig. 1) annahmen, zwischen denen sich zunächst ein undeutliches, dunkles Streifengebilde ausspannte, das man eventuell mit einer Centralspindel vergleichen und mit dem oben erwähnten dunkleren Einschluß des Kleinkernes — einem Innenkörperrest — in Beziehung bringen könnte. Trotzdem könnte man diesen aber nicht vollends mit einem Karyosom der Coccidien homologisieren, da bei diesen die Kernteilung (nach Schaudinn) nach einem mehr direkten Modus verläuft und das Karyosom den Kern gleichsam zerstemmt, ohne daß es zur Ausbildung von polaren Differenzierungen und einem Spindelapparat käme.

Bezüglich der Deutung all' dieser Binnenkörper, Karyosomen, Nucleolen, Nucleocentrosomen etc. muß man, da in diesem Sinne noch ein geringes Vergleichsmaterial vorliegt, sehr vorsichtig sein; so finden wir bei 2 Flagellaten, der Euglena und Polytoma, äußer-

Digitized by Google

lich ähnliche Innenkörper, von denen aber der bei der Euglena als ein Nucleocentrosoma oder Karyosoma funktioniert, den Kern zerteilt, ohne daß eine Längsspaltung der sog. Chromosomen erfolgt wäre, während der Innenkörper der Polytoma vor der Teilung schwindet und es zu einer anfänglich innerhalb der Membran noch liegenden typischen Spindelbildung kommt, deren Pole vermutlich als eine Art von Centrosomen Teile eines anfangs intranuclearen Körnchens krönen; dieses Körnchen ist nicht allein der kernnahe Abschluß eines rhizoplastartigen Strukturfadens (Dangeard), der von der Geißelbasis ausgeht, denn man findet ihn auch vielfach auf der Gegenseite des Kernes; vor der Teilung wandert er aus dem Kern heraus, zerteilt sich und unterliegt weiteren Modifikationen, deren Verlauf infolge seiner Kleinheit bis jetzt noch nicht genauer studiert wurde. In den polaren centrosphärenartigen Verdichtungen des sich teilenden Kernes der Gregarinen konnte ich aber nach scharfen Differenzierungen kein eigentliches Centrosom oder eine Centriole nachweisen. Die Verdichtungen entstehen durch Austritt von Kernsubstanzen, durch die dann lokal die osmotischen Verhältnisse im Plasma verändert werden und es zu einem Strahlungsphänomen kommt, wobei aus dem Gerüstwerk thatsächliche Radien ausgebildet werden, die anfangs sogar etwas gebogen sind, da der Kern auch hier wie bei den meisten Teilungen eine Drehung ausführt (vgl. Spermatogenese vor allem v. Helix, Astacus etc., ferner Teilungen in den Epithelzellen der Salamanderlarve etc.); solche wirbelartige Umbiegungen der Radien kann man vor allem bei der Befruchtung der Seeigeleier beobachten, wie auch hier Centrosphären am künstlichen Wege hervorgebracht werden können (Morgan, Doflein etc. künstliche Parthenogenese). Dieses hier etwas weitläufig diskutierte Stadium des Gregarinenkernes wird sodann von einer typischen Spindelbildung abgelöst, die schon Wolters 1891 samt den späteren deutlicheren polaren Verdichtungen abgebildet und zum Teil beschrieben hat; den Nachweis der indirekten Kernteilung bei den Gregarinen hat zuerst Henneguy in einer mir leider direkt nicht zugänglichen Arbeit erbracht. Die Kernmembran schwindet erst spät, ein Verhältnis, das auch Mrazek bei den Gregarinen der Rhynchelmis zu konstatieren die Gelegenheit besaß. Eine Folge davon ist, daß es gerade wie bei den Ciliaten hier zu einer eigentümlichen Torsion der Centralspindel kommt, die zum Teil auch durch den Widerstand und Rückstoß an dem so viele Einschlüsse bergenden Protoplasma bedingt wird (Fig. 4 u. 8).

Die Kernteilung der Gregarinen wäre demnach wieder ein Glied

Digitized by Google

jener noch nicht geschlossenen mannigfachen Kette von Übergängen, die von der direkten Kernteilung zu der indirekten führen; ohne auf weitgehende, derzeit noch unberechtigte physiologische oder vielleicht gar phylogenetische Spekulationen einzugehen, seien hier nur die uns interessierenden Entwicklungsetappen kurz charakterisiert. Zunächst zertrennt bei einzelnen Formen gleichsam ein besonderes Karyosom den Kern, dann findet wieder bei anderen Protozoen eine intranukleare Spindelausdifferenzierung mit minutiösen polaren Platten statt (Ciliaten), dann bilden sich extranukleare polare Anhäufungen, die Centrosphaeren gleichen, aus (Gregarinen), wobei die Kernmembran erst später schwindet und schließlich kommt es bei den höchsten Formen zur Entwicklung von selbständigen „kinetischen" Apparaten, den Centrosomen und Sphaeren, die sich auch unabhängig vom Kern teilen können (in natürlichen Fällen bei der Histogenese der Spermie, ferner bei den Zerschnürungsversuchen der Seeigeleier, bei den Versuchen H. E. Ziegler's sowie bei der Beeinflussung der Karyokinese durch chemische Stoffe etc.). Eine derartige Reihenaufstellung muß aber bis jetzt den Charakter des Provisorischen besitzen, da eine jede Untersuchung einer neuen Protozoenform neue Überraschungen bringen kann.

Ein eigentliches Hinüberwandern der Kerne aus dem Zellleibe des einen Syzygiten in den anderen wurde in keinem Falle beobachtet; die diesbezügliche Angabe Wolters', die auch nicht durch direkte Beobachtungen gestützt wird und nur auf Grund einer Kombination von mehreren Schnitten gemacht wurde, beruht wohl auf einem Irrtum. Von einer Konjugation auf diesem Stadium konnte sich auch Cuénot und Mrázek bei den Rhynchelmisgregarinen nicht überzeugen. Auch bei der von Siedlecki beobachteten Lankesteria ascidiae findet auf dem analogen Stadium keine Konjugation statt, sondern es tritt nur auf den Stellen der sich berührenden sog. Pseudopodienöffnungen in den beiderseitigen Plasmen ein intensives Strahlungsphänomen auf; erst später verschmelzen je zwei Sporoblasten zusammen. Auf den späteren Stadien degeneriert der alte Restkern entweder rapide oder erhält sich noch solange, bis die Mehrzahl der kleinen Spindeln aufgeteilt ist (Fig. 5), wobei die einzelnen Kugeln des zerfallenen Innenkörperrestes sich mit EH zunächst in der Art einer Spiegelfärbung tingieren. Die Körnchen chromatischer Substanz, die Wolters auf seinen mit der Flemming-schen Lösung gewonnenen Präparaten sah und sie in keinerlei befriedigenden Weise deuten konnte, dürften auf Teile des zerfallenen Restkernes zurückzuführen sein. Die aktiven Kerne teilen sich in-

Digitized by Google

zwischen der Peripherie entlang auf, wobei ihre Spindeln zusehends kleiner werden und immer weniger Details erkennen lassen (Fig. 5—8); an ihnen ist nur die Erscheinung bemerkenswert, daß in der Äquatorialplatte im Gegensatz zu früher die chromatoiden Bestandteile dicht, fast ringartig angeordnet sind (Fig. 6). Die Sphaeren sind dagegen undeutlich, radienärmer und auf einzelnen Stadien gar nicht zu erkennen. Die peripher, etwas tangential liegenden Spindeln teilen sich zuletzt so, daß die Polsphaere des einen Pols immer einen Buckel verdichteten Plasmas vordrängt, in den der Kern des künftigen Sporoblasten (Gametocyten) zu ruhen kommt und schließlich durch eine eigene Stielbildung abgeschnürt wird, — ob es hier zu Zwischenkörpern und Spindelplattenbildung kommt, kann wegen der großen Kleinheit des Objektes nicht mit Sicherheit festgestellt werden. Alle aktiven Kerne befinden sich auf demselben Entwicklungsstadium, wie dies auch für die Knospenbildung der Noctiluca von Doflein angegeben wurde, — ein Phänomen, das zum Teil auch den gleichen osmotischen Koefficienten des peripheren, aktiven colloidalen Protoplasmas zurückzuführen ist. — Inzwischen lösten sich in dem inneren Plasmaraume der Syzygiten die Paraglykogenkörper auf, und es bildeten sich hier und dort Vakuolen aus, während vielfach außen an der Peripherie eigenartige kleine Körper — vermutlich weitere Stoffwechselprodukte — konstatiert werden konnten. Auf die hier nur in ihren Hauptpunkten geschilderte Weise entstehen nun die von den früheren Autoren richtig gedeuteten Sporoblasten, die um den Restkörper, der später fast ganz schwindet, angeordnet sind. Durch die ungleiche Verteilung der Spindeln an der an Substanz zunehmenden, sich verdichtenden Oberfläche sowie durch die innere „Verödung“ und Verflüssigung des Restkörpers wird dieser vielfach in eigenartiger Weise abgefurcht und eingebuchtet. Zwischen einzelnen Sporoblasten nahm ich eine Kopulation, die allerdings infolge der kleinen Elemente sich nur mit Mühe feststellen läßt, wahr; die kritischen Stadien wurden in den Fig. 11—12 abgebildet. Da die Gametocyten stellenweise eine gewisse Beweglichkeit zeigten, könnte die Copula verschiedenen Individuen angehören.

Eine Verschmelzung zweier Sporoblasten als Isogameten ist auch aus dem Grunde wahrscheinlich, daß die Sporoblasten durch die Teilungen sehr klein werden, auf dem nächsten, bald sich anreihenden Stadium, das durch eine etwas längliche Form der Sporoblasten ausgezeichnet ist, aber schon viel größer sind. Analoge Vorgänge liegen bei der Lankesteria ascidiae vor. Es wäre zu wünschen, daß dieser wichtige Vorgang bald an größeren Formen mit mehr Sicher-

Digitized by Google

heit überprüft würde. Hernach ist der Kern der Sporablasten deutlich sphaerisch gebaut und das Chromatin nimmt die Peripherie ein — nicht weit von ihm bemerkt man in dem hellen Protoplasma eine verdichtete Stelle, die ich auf den letzten Sphaerenrest zurückzuführen geneigt wäre (Fig. 12—13), auf manchen Kopulationsstadien kann man zwei derartige kritische Verdichtungsstellen wahrnehmen (Fig. 12b). Später nimmt dieses kleine Zellgebilde eine längliche kahnförmige Gestalt an, sein Protoplasma wird deutlicher sowie netzwabig strukturiert (Fig. 14), und indem es sich außen mit einem anfangs zarten, hernach sich stetig verdichtenden Häutchen umgiebt, das polar 2 knopfartige Verdickungen führt, bildet es sich zu der Pseudonavicelle der älteren Autoren — zu der bekannten Sporocyste um. Unter der äußeren deutlich doppelt konturierten Schalenhaut kann man besonders an den Sporocysten der Monocystis magna noch ein feineres Häutchen konstatieren, das polar durch zwei mit EH oder mit Triacid deutlich sich färbende Pröpfe verschlossen ist (Fig. 21). Der Kern teilt sich sodann am indirekten Wege durch eine Spindelbildung, die allerdings infolge ihrer Kleinheit schwer zu studieren ist, in 2 Tochterkerne, die polwärts wandern (Fig. 15) und sich hier abermals teilen, doch so, daß diesmal die „Spindel" quergestellt ist (Fig. 16). Manchmal findet man auch Ausnahmen von dieser Achsenrichtung (Fig. 17). Schließlich teilt sich jeder Kern noch einmal, wobei die Spindel etwa um 60° gegen die letzte Spindelachse orientiert ist.

Der Kern vollführte derart meist von seiner ersten tangentialen Lagerung vor der Sporoblastbildung bis zu der letzten äquatorialen Anordnung in der Sporocyste eine Rotation von ungefähr 240°, ein Weg, den etwa auch das Centrosom bei der Spermatogenese der Weinbergschnecke während der Reifung zurücklegt. Nur selten findet man Ausnahmen dieser Polaritätsregel. Analoge Polaritätsverhältnisse dürften bei vielen cytologischen Entwicklungsvorgängen vorliegen, doch wurde bis jetzt wenig auf sie geachtet (Spermatogenese, Konjugation der Ciliaten, Polytomateilung, Noctilucaknospung n. Doflein etc.).

Die derart auf jedem Pol entstandenen 4 Kerne unterliegen nun einer zunehmenden Verdichtung. Etwas mehr Schwierigkeiten setzt das folgende Stadium der Deutung entgegen, indem nun die je 4 Kerne eine längliche, hantelförmige Gestalt annehmen, oft sich in charakteristischer Weise überkreuzen, schließlich aber doch unter nachfolgenden Verkürzungen in die Äquatorebene der Sporocyste herabwandern; diese merkwürdige Erscheinung ist wohl zunächst

Digitized by Google

auf die später erfolgende Zerteilung und Segmentierung des gemeinsamen Protoplasmas in je 8 sichelförmige Protoplasten der Sporozoiten, deren Kerne bei den folgenden Verlagerungen an den Polen so zerdehnt werden, zurückzuführen. Zum Schluß sind die 8 Sporozoiten — die also Sporocysten entstammen, welche abermals auf eine isogame Kopulation von je zwei Sporoblasten zurückzuführen sind — nach Art der Segmente einer Orange in dem engen kahnförmigen Raume der Cyste angeordnet. Nach dieser Darstellung der Gregarinenentwicklung liegt hier eine weitgehende Analogie zu der Schizogonie bezw. Sporogonie der Coccidien vor. —

Litteratur.

Die Arbeit von Cuénot war mir leider nicht zugänglich; ich lernte ihre Hauptresultate aus dem Neapler Jahresbericht, aus Lang's Protozoen und aus dem bekannten Sammelreferat von Lühe kennen.

1) Wolters, Max: Die Konjugation in Sporenbildung bei Gregarinen. Archiv f. mikroskop. Anatomie 1891. 37. Bd. p. 99 ff. Taf. V—VIII.

2) Pfeiffer, L.: Untersuchungen über den Krebs. Die Zellerkrankungen und die Geschwulstbildungen der Sporozoen. G. Fischer, Jena 1893.

3) Mrázek, A.: Studia o sporozoich. Věstnik král. české společnosti náuk. 1899. (Kernteilung und Sporulation bei den Gregarinen. Vorläuf. Mitteil. Die definitive Arbeit soll erst erscheinen.)

4) Schaudinn, F.: Untersuchungen über den Generationswechsel bei Coccidien. Zoolog. Jahrbücher Abteil. f. Anatomie u. Ontog. 13. Bd. 2. Heft 1900. p. 197 u. f. Taf. XIII—XVI.

5) Doflein, F.: Studien z. Naturgeschichte d. Protozoen IV. Zur Morphologie u. Physiologie d. Kern- u. Zellteilung. Zoolog. Jahrbücher Abteil. f. Anatomie u. Ontog. 14. Bd. 1. Heft 1900. p. 1 f. F. I—IV.

6) Lang, A.: Protozoa. Lehrbuch d. vergl. Anatomie. Fischer, Jena 1901.

7) Doflein, F.: Die Protozoen als Parasiten u. Krankheitserreger. Fischer, Jena 1901.

Tafelerklärung.

Tafel IX.

Fig. 1—4. Erste Spindelstadien der gemeinsam encystierten Monocystis.

Fig. 3. „Centrosphaere" in der Polansicht.

Fig. 5. Ein Individuum der Cyste mit zahlreichen Spindeln und dem Restkörper.

Fig. 6—8. Kleinere Spindelstadien.

Fig. 9. Deg. Kernrest.

Fig. 10. Segment eines sporulierenden Individuums.

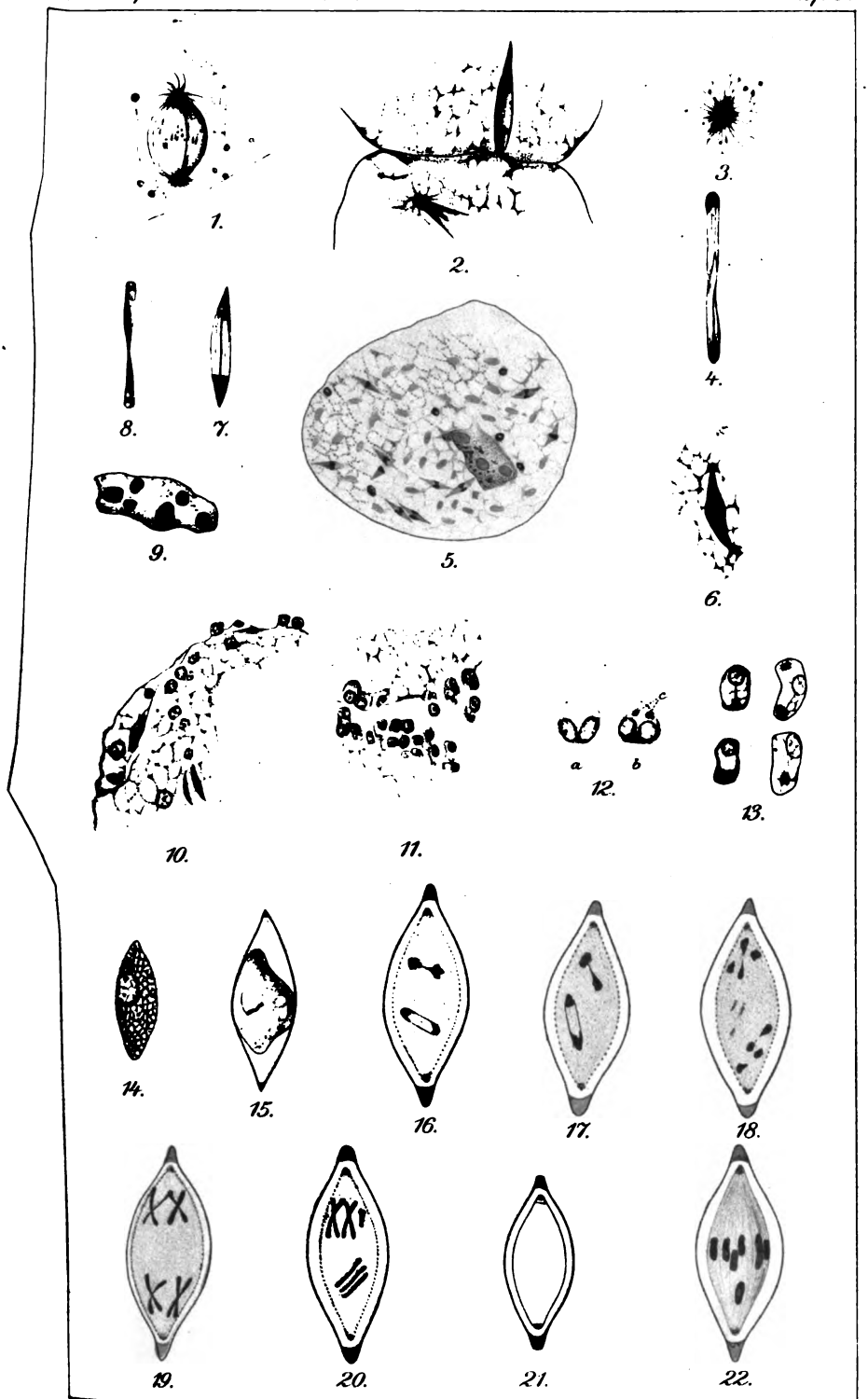
Fig. 11. Ausbildung von Sporoblasten, die des oberen Individuums sind größer, einzelne des unteren Individuums kopulieren. Die Stadien sind in Fig. 12 a u. b deutlicher abgebildet, bei b sieht man die kleinen Centrosphaeren (c).

Fig. 13. Sporoblasten (Gametocyten).

Fig. 14—22. Sporocysten mit den sich entwickelnden Sporozoiten.

Fig. 21. Inneres Sporocystenhäutchen mit den terminalen „Verschlußknöpfen".

Digitized by Google



Prowazek fec.

Lith. Anst. v. K. Wesser Jena

Verlag von **Gustav Fischer** in Jena

Digitized by Google

Nachtrag.

Bei einer Litteraturdurchsicht im Wiener Zoologischen Institut fand ich erst nachträglich die in vielen Punkten mit den vorliegenden Untersuchungen übereinstimmende und schon erschienene definitive Arbeit von Cuenot, Recherches sur l'evolution des Gregarines, Archives de Biologie T. XVII 1901, die mir leider bei der Abfassung der Arbeit in Frankfurt a. M. entgangen war. Im wesentlichen konnten demnach die Beobachtungen Cuenot's bestätigt werden.

Wien, 19. April 1902.

Digitized by Google

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: Archiv für Protistenkunde

Jahr/Year: 1902

Band/Volume: 1_1902

Autor(en)/Author(s): Prowazek Stanislaus von

Artikel/Article: Zur Entwicklung der Gregarinen. 297-305