

(Aus dem Zoologischen Institut der Universität Göttingen.)

Versuche über Regeneration und Kerndimorphismus bei *Stentor coeruleus* EHRBG.

Von

Victor Schwartz.

(Hierzu 26 Textfiguren.)

Inhaltsverzeichnis.

	Seite
1. Einleitung, Material und Methoden	100
2. Wachstum und Regeneration	104
3. Teilung	116
4. Entfernung des Macronucleus	122
5. Entfernung der Micronuclei	133
Zusammenfassung der Ergebnisse	137
Literaturverzeichnis	138

1. Einleitung, Material und Methoden.

Die physiologische Bedeutung des Kerndimorphismus der Ciliaten ist in vieler Hinsicht noch unklar. Die völlige funktionelle Trennung in Macronucleus, als Funktions- und Micronucleus, als Geschlechtskern, hat sicher nicht für alle Ciliaten Gültigkeit. Versuche an verschiedenen Hypotrichen (TAYLOR und FARBER, 1924, DEMBOWSKA, 1925 u. 1926) zeigten, daß die Teilungs- und Regenerationsfähigkeit nach Entfernung des Micronucleus sofort oder nach kurzer Zeit erlischt. Demgegenüber stehen andere Angaben über micronucleuslos gemachte oder gefundene Ciliaten, darunter auch Hypotrichen, die sich über viele Zellgenerationen hin fortpflanzen konnten. Danach und nach meinen früher mitgeteilten Ergebnissen (SCHWARTZ, 1934)

kann man schließen, daß die beiden Kernarten bei verschiedenen Ciliaten in recht verschiedener Weise in den Zellstoffwechsel eingreifen können. Es sind daher Untersuchungen nötig, die speziell auf die Frage des Kerndimorphismus zielen.

Die vorliegende Arbeit soll die Bedeutung des Macro- und Micronucleus für die Regeneration bei *Stentor coeruleus* EHRBG. aufklären.

Ein Schluß auf die wahrscheinliche Bedeutungslosigkeit des Micronucleus für die Einleitung des Regenerationsablaufes bei *Stentor* konnte bisher nur aus den Beobachtungen von BALBIANI (1892) und GRUBER (1893) an während der Konjugation zerschnittenen Stentoren gezogen werden. Regeneration war bei diesen Versuchen nur bei Gegenwart genügend weit entwickelter Macronucleusanlagen möglich. Immerhin war es nötig, dieses Ergebnis an vegetativen Stadien nachzuprüfen.

Herrn Prof. KÜHN danke ich für die Anregung zu dieser Arbeit und für die ständige Förderung des Fortganges derselben. Den Herren Priv.-Doz. Dr. KUHN, Dr. KRÖNING und Dr. HENKE danke ich für manche Hilfe.

Kulturen.

Mein *Stentor coeruleus*-Material stammt aus einem Aufguß von Bodenschlamm und Wasser der Leine, in dem im April und Mai 1932 *Stentor* viele Wochen lang gut gedieh. Seitdem habe ich *Stentor coeruleus* in BOVERI-Schalen (5,5 cm weit, 2,5 cm tief mit überfallendem Deckel) in Kultur. Versuchstiere, die häufig mikroskopisch untersucht werden mußten, lebten in tiefen Uhrgläsern (5 cm Durchmesser, 1 cm Tiefe) in wenig Flüssigkeit oder auf hohlgeschliffenen Objektträgern in der feuchten Kammer. Die Schalen wurden nach jedem Gebrauch mit Chrom-Schwefelsäure gereinigt.

Als Kulturmedium diene zunächst filtriertes Wasser aus der Leine oder verschiedenen Teichen der Umgebung Göttingens und eine 5proz. Lösung einer Erdstamm-lösung in destilliertem Wasser, die in Anlehnung an HÄMMERLING's *Acetabularia*-Kulturtechnik hergestellt wurde. (Erde: vom Gärtner bezogene 3jährige Mistbeet- und Lauberde zu gleichen Teilen gemischt. 1 Teil Erde in 1 Teil destilliertem Wasser 1—1,5 Stunden im Dampftopf auf 100° gehalten, unter mehrfachem Dekantieren in der Kälte klären gelassen, steril aufbewahrt.) In letzter Zeit habe ich mit einem anders angesetzten Medium mehr Erfolg gehabt. Ich habe auf je 5—10 ccm der gleichen Erdmischung 100 ccm destilliertes Wasser aufgegossen, das Ganze bei Zimmertemperatur stehengelassen und hin und wieder umgeschüttelt. Nach einer Woche wurde das nun hellgelb gefärbte Wasser von der Erde abgegossen und unsterilisiert aufbewahrt. Vor Gebrauch habe ich dieses Medium stets durch ein BERKEFELD-Filter filtriert.

Das für Kulturen verwendete destillierte Wasser ist einmal in Jenaer Glasgeräten umdestilliertes käufliches destilliertes Wasser.

Als Futter diene *Colpidium*. Die Colpidien gediehen in einer ungefähr 0,03 proz. Lösung von LIEBIG's Fleischextrakt in BOVERI-Schalen sehr gut. Sind nach

starker Vermehrung der Colpidien keine Bakterien mehr in der Kultur vorhanden, so bilden die Colpidien dichte Ansammlungen am Boden der Schale, die schon makroskopisch als Zentimetergröße erreichende weiße Flecken zu erkennen sind. Aus diesen Ansammlungen kann man Massen von Colpidien ohne nennenswerte Mengen des für *Stentor* ungünstigen Colpidienkulturmediums in die *Stentor*-Kulturen übertragen. Außer in Fleischextraktlösung habe ich die Colpidien auch in Heuaufgüssen in großen Gläsern kultiviert (Heu und Teichwasser vor dem Ansetzen des Aufgusses durch Hitze sterilisiert, um *Colpidium* fressende Ciliaten fernzuhalten). Wird aus einer solchen Aufgußkultur, die gut gedeiht, ein kleines Quantum der Flüssigkeit in eine BOVÉRI-Schale abpipettiert, so bilden die Colpidien auch hier sehr bald die erwähnten Ansammlungen.

In den *Stentor*-Kulturen vermehren sich die Colpidien nicht. Man kann ihre Vermehrung veranlassen, indem man durch Zusatz geringer Mengen fein zerriebener Salatblätter eine leichte Fäulnis herbeiführt. Die *Stentoren* gedeihen aber ohne diesen Salatzusatz im allgemeinen besser.

Vorübergehend habe ich auch *Paramaecium bursaria* EHRBG. mit gutem Erfolg verfüttert.

Obleich die *Stentoren* im allgemeinen gut gedeihen, traten doch ab und zu Depressionen ein, in denen viel Material verloren ging und deren Ursache ich nicht angeben kann. Wechsel des Mediums brachte oft Besserung (Übergang von Teichwasser zu Erdabkochung oder Wasser eines anderen Teiches). In meinem letzten Erdaufgußmedium ist noch keine Depression vorgekommen, doch ist dieses erst seit kurzer Zeit in Anwendung.

Konjugation oder Parthenogenese sind in meinen Kulturen nie eingetreten.

Die Kulturen wurden teils bei Zimmertemperatur gehalten, teils im Thermostaten bei 9—10° oder 22°. Bei der tiefen Temperatur gedieh *Stentor* stets besonders gut.

Operationen.

Mein Operationsmesser stellte ich aus einer Nähnadel her. Eine Nadel von 0,25 mm Stärke wurde in ein Ende eines als Griff dienenden Glasrohres eingeschmolzen, durch vorsichtiges Ausglühen weich gemacht und darauf ihre Spitze, nach Vorschleifen mit einem rotierenden Stein, unter dem Binokular flachgeschliffen.

Die Operationen wurden unter dem Binokular in einem kleinen Tropfen Wasser auf einem gewöhnlichen Objektträger ausgeführt. Das Objekt wurde mit der Nadel soweit zwischen Objektträger und Tropfenoberfläche am Rande des Tropfens in die Enge getrieben, daß es einigermaßen festlag und zielsicher operiert werden konnte. Es geschieht dabei leicht, daß das Objekt an der Tropfenoberfläche hängenbleibt und zerstiebt.

Präparate.

Für Totalpräparate (Fig. 3 u. 9) wurden die Objekte mit warmem Sublimat-Alkohol fixiert, mit Alaunkarmin leicht angefärbt und in Zedernholzöl eingeschlossen. Das Deckglas wurde mit Glasstäbchen unterstützt, deren Dicke mit der des Objektes übereinstimmt. So hat man die Möglichkeit das Objekt durch Verschieben des Deckglases in jede gewünschte Stellung zu rollen. In solchen Präparaten sind die Pigmentkörner in natürlicher Farbe und die Macronucleusglieder rot gefärbt, während das Cytoplasma farblos ist.

Zum Nachweis der Micronuclei in macronucleuslosen Tieren mußte ich die Objekte beim Fixieren an den Objektträger festkleben, weil die Versuchstiere oft

klein waren. Ein fast verlustloses Arbeiten wurde möglich, wenn ich als Aufklebmittel Schneckenblut (von *Helix pomatia*) und als Fixiergemisch eine Mischung von gleichen Teilen Sublimat-Alkohol-Eisessig (2 Teile konzentrierte Sublimatlösung, 1 Teil absoluter Alkohol, 1 Teil Eisessig) und konzentrierter Salpetersäure (spezifisches Gewicht 1,4) verwandte. Diese Fixierflüssigkeit ist nicht haltbar und wurde daher stets vor Gebrauch gemischt. Das Schneckenblut kann durch Zusatz von Kampferstückchen monatelang brauchbar gehalten werden. Zur Präparation wird das Objekt in einem kleinen Tropfen Kulturflüssigkeit (etwa 1 mm Durchmesser) auf den Objektträger gebracht, wo der Tropfen mit Hilfe einer Nadel mit einem gleich großen Quantum Schneckenblut vermischt wird. Soweit die Größe des Objektes es gestattet, wird der Tropfen dabei auseinandergezogen. Dann fixiert man indem man einen Tropfen Fixiergemisch aus der Pipette darauffallen läßt. Nun haftet das Objekt fest am Objektträger. Es wird sofort mit Jod-Alkohol und Leitungswasser (dieses zur Neutralisierung der Säure) ausgewaschen und gefärbt. Zur Färbung ist nach dieser Fixierung HANSEN's Eisentrioxyhämatein und Differenzierung mit 2—3proz. Schwefelsäure ausgezeichnet geeignet. Die Kerne werden dunkel blauschwarz gefärbt, während das Cytoplasma nur leicht gebräunt wird (Fig. 13).

Um alle Micronuclei neben den Macronucleusgliedern nachzuweisen, wurden Schnitte angefertigt. Um die oft sehr kleinen Objekte beim Einbetten nicht zu verlieren, habe ich sie nach Fixierung mit warmem Sublimat-Alkohol (nach SCHAUDINN) in einen Tropfen Eiweiß aus Hühnereiern (wie das Schneckenblut aufbewahrt) übertragen und diesen durch Zusatz konzentrierter Salpetersäure zum Gerinnen gebracht. Die Säure wird sofort wieder abgespült und aus dem Eiweiß wird ein kleiner Block, der den *Stentor* enthält, herausgeschnitten.

Die Einbettung geschah auf dem Wege über Celloidin-Methylbenzoat, da die Verwendung von Xylol das Zerbröckeln der Blöcke und damit die Verwechslungsgefahr förderte. Zur Färbung der Schnitte benutzte ich HEIDENHAIN's Eisenhämatoxylin. Die Schnittdicke betrug 5 und 7,5 μ . 7,5 μ ist, wenn vorsichtig differenziert wird, vollständig hinreichend, um alle Micronuclei erkennen zu können. Fig. 21 gibt auf diese Weise erhaltene Schnittpräparate wieder.

Sowohl Total- wie Schnittpräparate, die auf ihren Kernbestand untersucht werden sollten, wurden mit Kaliumpermanganat (1proz.) und Oxalsäure (5proz.) gebleicht, weil das Pigment sonst störte.

An Hand der Fig. 1 seien die im folgenden gebrauchten Bezeichnungen der *Stentor*-Morphologie, wie sie sich in der Literatur finden, kurz erläutert. Peristomtasche (STEIN) und Trichter (SCHUBERG) werden von eingesenkten Ectoplasmapierten gebildet, auf denen sich die Streifung des Peristomfeldes fortsetzt. Als Regenerationsfeld bezeichne ich den Bereich an der linken Seite von *Stentor*, in dem das neue Membranellenband für die Teilung und Regeneration angelegt wird. An der linken Seite eines jeden Stentors befindet sich eine scharfe Grenze in der Oberflächenstreifung, an der viele schmale Streifen von ventral und wenige breite von dorsal her gegeneinander münden (vgl. Fig. 3a). SCHUBERG (1891) hat in im einzelnen nicht ganz zutreffender Weise, auch ohne den Unterschied in der Streifenbreite zu erwähnen, diese Linie als eine

Grenze („linker Grenzstreifen“) seiner „Verästelungszone“ beschrieben. Die Verästelungszone ist ein von ihm eindeutig definierter Bereich, in dem sich nach seiner Ansicht die neu angelegte Membranellenspirale entwickelt. Da die Membranellenbandanlage bereits auf frühen Stadien den erwähnten „linken Grenzstreifen“ nach dorsal zu überschreiten kann, mußte der Ort der Entstehung des neuen

Membranellenbandes neu benannt werden. Das Regenerationsfeld umfaßt, wie Fig. 1 zeigt, einen Teil der Verästelungszone und ein dorsalwärts daran anschließendes Gebiet. Es ist nur nach oben scharf begrenzt, und zwar durch den oralen Teil der Membranellenspirale. Als Streifen bezeichne ich im Gegensatz zu SCHUBERG die blauen Pigmentbänder.

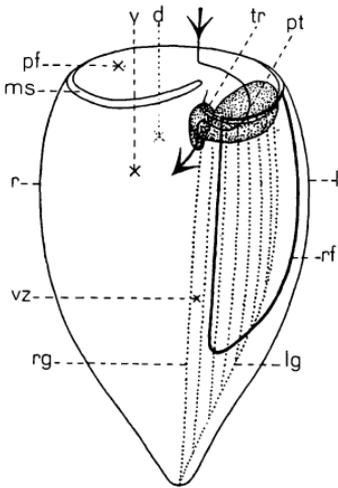


Fig. 1. Schema von *Stentor coeruleus* zur Erklärung der morphologischen Bezeichnungen. *d* dorsal, *v* ventral, *r* rechts, *l* links, *ms* Membranellenspirale, *pf* Peristomfeld, *pt* Peristomtase, *tr* Trichter, *vz* Verästelungszone (der Verlauf der Streifung ist innerhalb der Verästelungszone angegeben), *rg* und *lg* deren rechter und linker Grenzstreifen, *rf* Umgrenzung des Regenerationsfeldes. Der Pfeil gibt den Weg zur Nahrung vom Peristomfeld aus durch Peristomtase und Trichter bis ins Entoplasma an.

2. Wachstum und Regeneration.

Die Erscheinung, daß *Stentor* gelegentlich den oralen Teil der Membranellenspirale samt Peristomtase und Trichter resorbiert und durch ein entsprechendes Regenerat ersetzt, ist öfters als physiologische Regeneration in der Literatur erwähnt und recht ungenau beschrieben worden. Auch ist schon lange bekannt, daß sich der Macronucleus während dieses Vorganges, wie sonst bei der Regeneration des Peristoms, zusammenballt und von neuem gliedert und dabei oft seine Gliederzahl erhöht. Es fehlen aber Bilderserien, die den Vorgang genau darstellen und einen Vergleich mit den Stadien der Teilung ermöglichen.

Die Fig. 2 a—e zeigt einige Stadien der physiologischen Regeneration nach dem Leben. Einzelheiten sind am fixierten Material besser zu erkennen (Fig. 3 u. 4). Im Regenerationsfelde erscheint schräg zur Verlaufsrichtung der Streifen die erste Anlage des Membranellenbandes, größtenteils im Bereich der schmalen Streifen, als eine Verwischung der Streifen (Fig. 3 a). Gleichzeitig beginnt

über und unter der Membranellenbandanlage eine Vermehrung der Streifen durch Längsteilung, die mit der weiteren Entwicklung des Membranellenbandes fortschreitet (Fig. 3 b). Mit stärkerer Vergrößerung kann man in dem Präparat der Fig. 3 b auch schon die Anlagen der Membranellen als sehr feine Querstreifen erkennen. Die

Membranellen entwickeln sich rasch stärker und rücken durch die Streckung des Membranellenbandes etwas auseinander (Fig. 3 c).

Weiterhin werden keine neuen Membranellen mehr angelegt, sondern die Abstände zwischen den bereits vorhandenen vergrößern sich, während das Band sich weiter streckt. Der Verfall der alten Peristomatase und des Trichters, die zwar durch die Fixierung deformiert, aber an ihrem Pigmentreichtum zu erkennen sind, ist vom Stadium Fig. 3 c an zu verfolgen. Auf Fig. 3 d hat das aborale Ende des Mem-

branellenbandes bereits die Anschlußstelle an die alte Membranellenspirale erreicht, während der Macronucleus sich zusammengeballt hat. Fig. 3 e zeigt ein Stadium, auf dem die alten oralen Organellen (einschließlich des oralen Teiles der Membranellenspirale) weitgehend resorbiert sind, der Anschluß des neuen Membranellenbandes an den aboralen Rest des alten hergestellt wird und der Macronucleus sich neu gliedert. Auf Fig. 4 a ist die An-

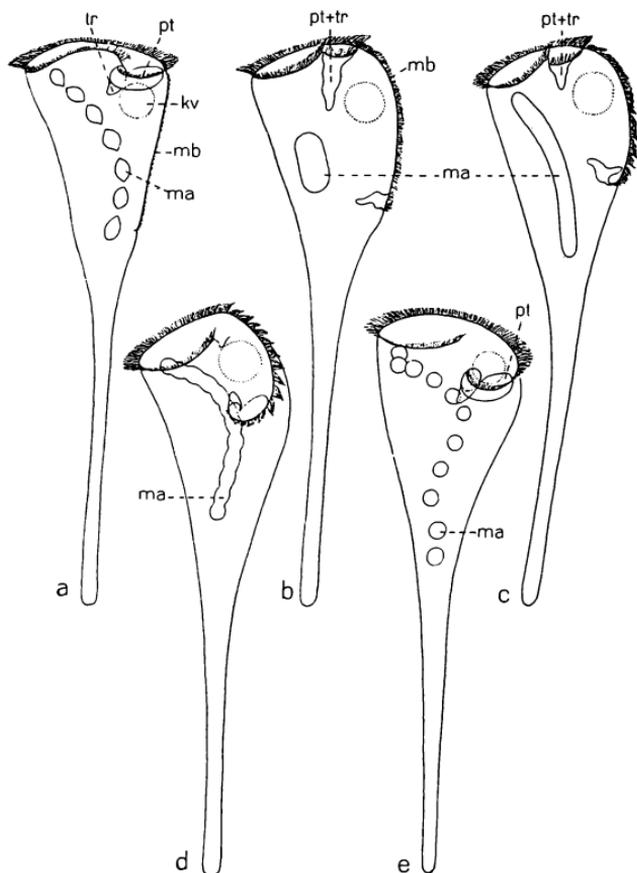
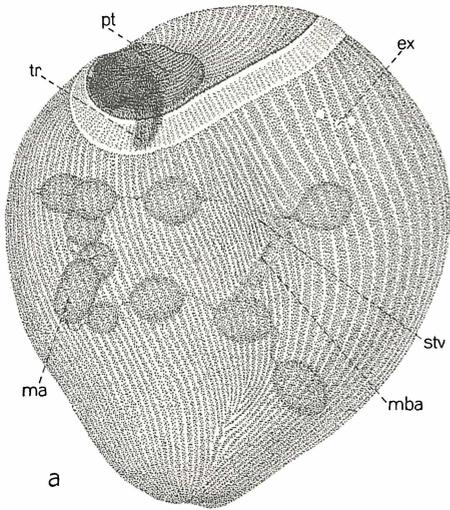
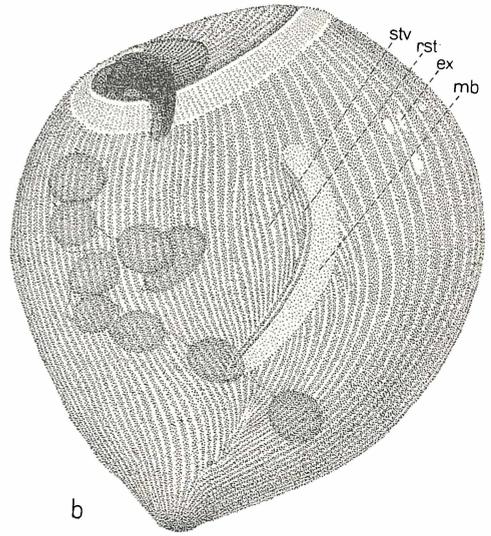


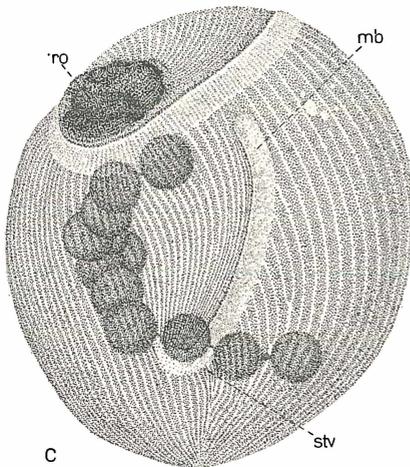
Fig. 2 a—e. *Stentor coeruleus* in physiologischer Regeneration. Nach dem lebenden Objekt mit dem Zeichenapparat gezeichnet. *ma* Macronucleus, *mb* Membranellenband, *pt* Peristomatase, *tr* Trichter, *kv* kontraktile Vakuole. Vergr. 120fach.



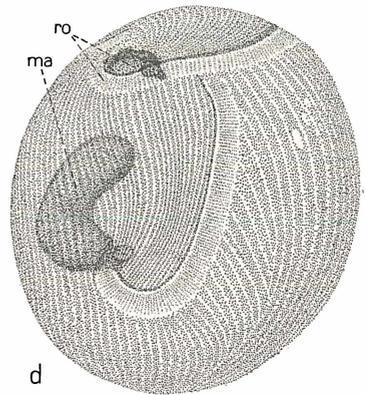
a



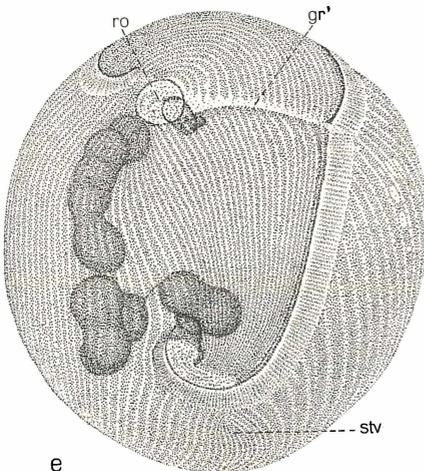
b



c



d



e

Fig. 3 a—e. *Stentor coeruleus* in physiologischer Regeneration. Nach Totalpräparaten. Von der linken Seite gesehen. *pt* und *tr* Peristomtasche und Trichter (beide durch die Fixierung deformiert), *ma* Macronucleus, *mb* Membranellenband, *rst* Randstreif (SCHUBERG), *ro* in Resorption begriffene Organellen, *gr'* Grenze zwischen dem letztregenerierten und dem älteren Peristomfeldteile, *stv* Streifenvermehrung, *ex* Entleerungsstellen der kontraktiven Vakuole. Vergr. 250 fach.

schlußstelle in der Membranellenspirale noch sichtbar. Dieses Bild und Fig. 4 b geben Aufschluß über die nun eintretenden Bewegungen des Ectoplasmas des neuen Peristomfeldteiles. Wie es schon BALBIANI (1891) angegeben hat, werden die Streifen des neuen Peristomfeldteiles nicht etwa direkt an die des alten angeschlossen, sondern sämtliche apicalen Streifenenden des neuen Mundfeldteiles werden gegen die Resorptionsstelle des alten Trichters hin gedreht. Die meisten Streifen münden hier gegen einen pigmentarmen Fleck, eben die Resorptionsstelle, während nur wenige an alte Peristomfeldstreifen Anschluß finden. Schließlich rückt die Membranellenspirale in ihre

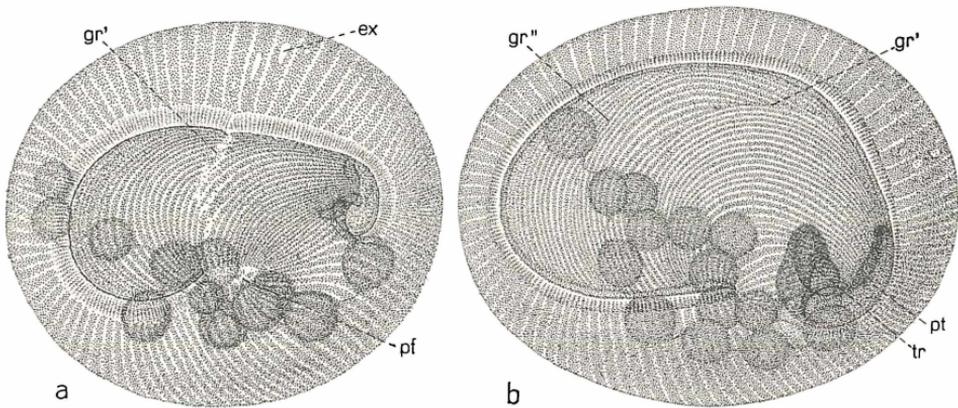


Fig. 4 a u. b. *Stentor coeruleus* in physiologischer Regeneration. Nach Totalpräparaten. Oralansicht. *pt* Peristomtasche, *tr* Trichter, *pf* pigmentfreier Fleck am Ort der Einschmelzung von Peristomtasche und Trichter, *gr'* Grenze zwischen dem letztregenerierten und dem älteren Peristomfeldteile, *gr''* gleichartige Grenze von der vorigen physiologischen Regeneration her, *ex* Entleerungsstelle der kontraktiven Vakuole. Vergr. 250fach.

endgültige Stellung ein, indem sich ihr aborales Ende in den pigmentarmen Fleck einschiebt und der Abstand zwischen aboralem Ende und Trichter verringert wird. Diese Verringerung des Abstandes geschieht unter Kontraktion des betreffenden Oberflächenteiles, was an der Stauchung seiner Streifen abzulesen ist. Selbstverständlich muß zur gleichen Zeit eine Streckung des Ectoplasmas der Gegend des Regenerationsfeldes, die der Längsachse des Tieres parallel gerichtet ist, erfolgen (Fig. 2 d, e). So kommt das Stadium Fig. 4 b zustande. Man sieht deutlich die Grenze zwischen dem letztregenerierten und dem älteren Peristomfeldteile. Innerhalb des letzteren ist eine weitere derartige Grenzlinie zu sehen, die von einer früheren Regeneration her stammen muß. Diese Grenzlinien hat schon BALBIANI

als Produkte periodischer Wiederholung der physiologischen Regeneration erkannt.

Die Anzahl der bei der physiologischen Regeneration neugebildeten Membranellen ist größer als die der eingeschmolzenen, d. h. der Umfang der Membranellenspirale ist größer geworden. Tabelle 1 zeigt das Ergebnis von Zählungen an 10 in Regeneration fixierten Objekten. Fehler können beim Zählen dadurch entstanden sein, daß im Trichter in die Tiefe gesenkte Membranellen der Beobachtung entgingen (mindestens ein Teil derselben ist mitgezählt!), weil gerade hier viel Pigment liegt. Es kann sich dabei aber nicht um Beträge handeln, die dieses Ergebnis in Gefahr brächten.

Tabelle 1.

Anzahl der neu angelegten und der in Resorption begriffenen Membranellen bei der physiologischen Regeneration.

Stadium in Fig. 2	Angelegt	In Resorption
b	150—170	90—100
b	180—200	100—120
b	140—160	90—100
b—c	125—145	60— 80
b—c	150—170	80— 90
c	160—180	85— 95
d	155—175	70— 90
d	150—160	75— 85
d—e	160—170	55— 65
d—e	160—180	55— 65
$M \pm 3 m$	163 ± 13	83 ± 14

Dem Wachstum der Membranellenspirale entsprechend kann man auch unter dem Membranellenbände, neben der bereits erwähnten Streifenvermehrung auf frühen Stadien, einen intensiven Streifenzuwachs auf späten Stadien beobachten, und zwar an der Grenze von schmalen und breiten Streifen, wo die Einkrümmung des Oralendes des Bandes liegt. Es werden hier neue Streifen eingeschaltet (Fig. 3 e). Auf Fig. 3 d fehlt diese Streifenvermehrung ausnahmsweise. Auf späteren Stadien vermißte ich sie nie. In den letzten Stadien fällt hier nur noch eine besonders enge Streifung auf. Den Sinn dieser Streifenvermehrung sehe ich in der Vergrößerung des Umfanges unmittelbar unter der gewachsenen Membranellenspirale.

Die Art der Entstehung von Peristomtasche und Trichter habe ich nicht genau untersucht.

Viel sinnfälliger als die Membranellenspirale zeigt der Macronucleus, daß die physiologische Regeneration ein Wachstumsvorgang ist. Entfernt man aus einem *Stentor* die Macro-

nucleusglieder bis auf eines oder wenige, so erfolgt eine Vermehrung der zurückgebliebenen Kernglieder erst beim nächsten Regenerationsablauf. Bis dahin können, wenn die Membranellenspirale bei der Operation unverletzt blieb, Tage vergehen. In dieser Zeit verändern die Macronucleusglieder ihre Form oft erheblich. Von den auf Fig. 5 dargestellten Exemplaren hatten a und b je ein und c zwei Macronucleusglieder übrig. Die Oberfläche der Kernglieder ist stark vergrößert worden, anscheinend ohne nennenswerte Veränderung des Volumens. Meine wenigen Messungen gestatten keine Aussagen über eine eventuelle Volumen-zunahme. Groß ist diese auf keinen Fall. Die Deformierung der Macronucleusglieder, die durchaus nicht in jedem Falle eintrat, war meist eine Streckung (Fig. 5 b u. c), seltener eine Abplattung, wie in Fig. 5 a. Hier betrug die Dicke des plattenförmig gewordenen Kerngliedes ungefähr nur $\frac{1}{15}$ — $\frac{1}{20}$ der Länge. Oft sieht man bei Tieren, die verhältnismäßig wenig Kernglieder besitzen, daß diese nicht rund, sondern etwas gestreckt sind. Ich halte dies ebenfalls für eine Formveränderung zugunsten der Oberflächenvergrößerung, die von der eben beschriebenen nur graduell verschieden ist. Tritt schließlich Regeneration ein, so kann die Zahl der Kernglieder mit einem Schlage stark heraufgesetzt werden.

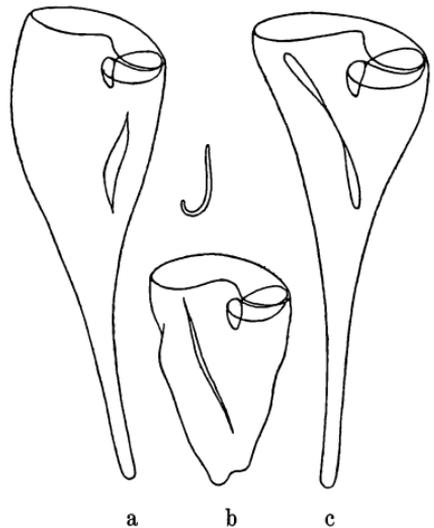


Fig. 5 a—c. Deformation von Macronucleusgliedern, die nach operativer Entfernung der anderen Glieder allein im Objekt verblieben. a Abflachung und Streckung eines Gliedes, das in a' in anderer Ansicht und veränderter Lage gezeigt ist, b extreme Streckung eines Gliedes, c tropfenförmige Streckung zweier Glieder, *ma* Macronucleus. Vergr. 90fach.

Tabelle 2 zeigt, daß zwischen Zellgröße und Zuwachs der Macronucleusgliederzahl bei der Regeneration positive Korrelation besteht. Die Regeneration ging in dem für diese Aufstellung benutzten Material in 56 Fällen von einem Macronucleusgliede aus, in 25 Fällen von zweien und in 10 Fällen von drei Gliedern. An dem gleichen Material konnte ich daher auch nachweisen, daß eine Abhängigkeit der Vergrößerung der Gliederzahl von der Anzahl der zu Beginn der Regeneration vorhandenen Glieder nicht besteht, was Tabelle 3 erläutern soll.

Man kann also schließen, daß der Macronucleus bei der Regeneration seine Gliederzahl der Zellgröße entsprechend vergrößert. Messungen, in welchen Stadien das oft sehr starke Wachstum erfolgt, liegen noch nicht vor. Im äußersten Falle sah ich Vermehrung von 1 auf 13 Glieder.

Tabelle 2.

Korrelation zwischen Zellgröße und Zuwachs der Macronucleusgliederzahl bei der Regeneration. $n = 92$

Durchmesser des kontrahierten Tieres 1 Einheit = 16,7 μ	Zuwachs der Macronucleusgliederzahl in Prozent der Gliederzahl nach der Regeneration.							
	20—30	30—40	40—50	50—60	60—70	70—80	80—90	90—100
4—6	—	1	—	—	—	—	—	—
6—8	1	1	2	5	1	—	—	—
8—10	—	—	1	1	3	—	5	—
10—12	—	—	—	2	—	3	11	1
12—14	—	—	—	2	6	6	15	—
14—16	—	—	—	—	2	2	13	5
16—18	—	—	—	—	—	—	3	—

$$r = 0,58, \quad m_r = 0,04.$$

Tabelle 3.

Wachstum der Gliederzahl des Macronucleus bei der Regeneration von einem und von mehreren Gliedern aus, bei gleicher Zellgröße.

Gliederzahl zu Beginn der Regeneration	Gliederzahl nach der Regeneration $M \pm 3 m$	Zelldurchmesser 1 Einheit = 16,7 μ $M \pm 3 m$	Absolute Individuenzahl
1	6,60 \pm 1,00	12,39 \pm 0,98	56
2 und 3	6,80 \pm 1,02	11,46 \pm 1,61	35

Es fragt sich nun, ob überhaupt keine Vermehrung der Macronucleusglieder ohne Regenerationsablauf möglich ist. Ich habe in meinen Protokollen 202 Fälle, in denen eine sprungweise Vermehrung der Kernglieder (um 2 und mehr) stattfand. In 102 von diesen habe ich die Regeneration beobachten können. Wo ich sie nicht sah, war immer von Beobachtung zu Beobachtung genug Zeit verstrichen, daß sie ungesehen abgelaufen sein konnte. In 2 Fällen fand an 2 aufeinanderfolgenden Tagen Zuwachs von einem Macronucleusglied täglich statt, ohne daß ich die Regeneration sah (immerhin kann sie ungesehen geschehen sein, denn Macronucleuswachstum um nur ein Glied kommt bei der Regeneration auch vor). Die Möglichkeit ist aber gegeben, daß solch ein geringer Zuwachs ohne Regenerationsablauf vorkommt.

PROWAZEK (1904) hat angegeben, daß ein neues Macronucleusglied in dem Verbindungsstück zwischen 2 Gliedern oder durch Zerschnürung eines Gliedes entstehen kann. Bei meinem Material kamen Veränderungen der Macronucleusgliederzahl durch Verschmelzung und Wiedertrennung benachbarter Glieder auch vor. Ich habe mehrfach Änderungen der Anzahl mit entsprechendem Auftreten und Verschwinden doppelt langer Glieder ohne oder mit einer Einschnürung in der Mitte gesehen. Ein schrittweises Wachstum um mehr als 2 Glieder fand ich nie.

Aus dem Verhalten einzeln im Objekt verbliebener Macronucleusglieder, daraus, daß ein schrittweiser Zuwachs im Höchsthalle 2 Glieder betrug und aus der Tatsache, daß auch in den Fällen, in denen die Regeneration nicht beobachtet wurde, die Gliederzahl sprungweise anstieg, schließe ich, daß der Macronucleus um Beträge von mehr als 2 Gliedern nur in der Regeneration wachsen kann.

Bei der Regeneration braucht die Macronucleusgliederzahl aber durchaus nicht immer zu wachsen. Sie kann auch konstant bleiben oder sogar herabgesetzt werden.

Schneidet man einem *Stentor* nur den oralen Teil der Membranellenspirale samt Peristomtasche und Trichter ab, so setzt sehr rasch die Regeneration ein (bei 22° ist nach 4 Stunden das Membranellenband angelegt). Dabei wächst der Macronucleus im allgemeinen und stellt seine Gliederzahl, die in den meisten Fällen zu klein sein wird, weil die Zelle seit der letzten Regeneration oder Teilung gewachsen ist, auf das der Zellgröße entsprechende Maß ein. Wird die gleiche Operation sofort nach Beendigung der Regeneration wiederholt, so wird die Zelle durch den bei der Operation entstehenden Materialverlust zu klein gegenüber der eben hergestellten Kerngliederzahl. Bei der wiederum rasch einsetzenden Regeneration läuft der Macronucleusformwechsel ebenso ab, wie bei der ersten. Nur ist das Ergebnis eine Herabsetzung oder ein Konstantbleiben der Gliederzahl. Selten wird auch bei der zweiten Regeneration die Gliederzahl noch vergrößert. Nur zum Teil sind dies Fälle, in denen bei der zweiten Operation einzelne Kernglieder verloren gingen. Man muß daher annehmen, daß das Verhältnis zwischen Gliederanzahl und Zellgröße in einem gewissen Betrage schwankt. Welche Bedingungen hier modifizierend wirken, ist noch unklar. Daß auch bei der ersten Regeneration in einzelnen Fällen eine Herabsetzung der Gliederzahl stattfindet, ist selbstverständlich, da ja unter den zur Operation kommenden Tieren immer einige sein müssen, die vor kurzer Zeit erst ihre Macronucleusgliederzahl einregulierten. Die folgende Tabelle 4 gibt das Zahlenmaterial für die eben beschriebenen Reaktionen der Gliederzahl auf Ver-

änderungen der Zellgröße. In das hierfür verarbeitete Material sind auch alle die Tiere aufgenommen, die in der ersten Regeneration die Gliederzahl herabsetzten, und die, die sie in der zweiten noch erhöhten. Das Material der zweiten und dritten Regeneration ist, da es sich prinzipiell ja nicht unterscheidet, zur Vergrößerung der Individuenzahl zusammengefaßt dem der ersten Regeneration gegenübergestellt worden.

Tabelle 4.

Veränderung der Macronucleusgliederzahl bei der durch Operationen veranlaßten wiederholten Regeneration.

Operation und Regeneration	Zellverkleinerung in Prozent der Größe vor der Operation $M \pm 3 m$	Steigerung bzw. Herabsetzung der Macronucleusgliederzahl in Prozent der Gliederzahl vor der Regeneration $M \pm 3 m$	Absolute Individuenzahl
1	$-15,33 \pm 3,27$	$+25,23 \pm 13,41$	43
2 und 3	$-11,57 \pm 2,72$	$-9,40 \pm 7,92$	50

Tabelle 5.

Verhalten der Größe der Macronucleusglieder bei Veränderung der Gliederzahl in der Regeneration.

Größe der Macronucleusglieder	Macronucleusgliederzahl		
	herabgesetzt	unverändert	gestiegen
herabgesetzt	—	—	2
unverändert	2	4	6
gestiegen	14	4	4

Die Herabsetzung der Kerngliederzahl bei wiederholter Regeneration bedeutet nicht etwa einen Rückgang des Macronucleusvolumens. Tabelle 5 zeigt das Ergebnis einiger Messungen. Bei Abnahme der Gliederzahl fand ich nie eine Verkleinerung und fast stets eine Vergrößerung der einzelnen Glieder. Bei Konstantbleiben der Gliederzahl wurde ebenfalls nur ein Konstantbleiben oder Anwachsen der Gliedergröße gefunden. Nur, wenn die Gliederzahl wuchs, habe ich auch eine Verkleinerung der Glieder gefunden. Daß beim Wachstum der Gliederzahl nur in so wenigen Fällen eine Verkleinerung der Glieder stattfand, mag daher kommen, daß die Zunahme der Gliederzahl in den für diese Messungen benutzten Fällen stets gering war. Das Zahlenmaterial und die Meßgenauigkeit sind noch zu gering, um darauf tiefere Schlüsse aufzubauen. Ein guter Angriffspunkt für weitere Arbeit bietet sich hier.

Was hier aber über das Zusammenspiel von Gliederzahl und -größe festgestellt ist, berechtigt doch zur folgenden Überlegung. Wenn man bedenkt, daß die Vergrößerung des Durchmessers eines kugelförmigen Macronucleusgliedes um 25 Proz. (wie sie praktisch vorkommt) schon einen Volumenzuwachs von 96 Proz. ausmacht, während die Oberfläche nur um 56 Proz. wächst, so kann man sich leicht vorstellen, daß die Herabsetzung der Gliederzahl bei steigendem Volumen der einzelnen Glieder eine Verringerung der Gesamtoberfläche des Macronucleus zu bedeuten hat. Im Vergleich mit dem Verhalten einzeln im Objekt verbliebener Macronucleusglieder (Fig. 5) erscheint das als durchaus verständlich. Wie das Gesamtvolumen des Macronucleus sich bei der Regeneration verhält, kann ich auf Grund meiner Messungen nicht angeben.

Die Micronuclei machen anscheinend bei jeder Regeneration einen Teilungsschritt durch. Das zeigt der folgende Versuch. Aus 15 Stentoren wurden die Macronucleusglieder bis auf eins, und damit auch die meisten Micronuclei entfernt. Nun wurden die Tiere bei guter Fütterung gehalten und nach der ersten Teilung fixiert. Bis dahin waren mehrere physiologische Regenerationen (soweit beobachtet 2—3) an jedem Tier abgelaufen. Die Tochtertiere hatten

$$M = 15,33 \pm 3,92 \quad (n = 30)$$

Micronuclei gegenüber der normalen Anzahl

$$M = 24,87 \pm 2,58 \quad (n = 63)$$

meines Klones bei etwa gleicher Zellgröße. Man kann annehmen, daß mit dem einen Macronucleusgliede rund 2—3 Micronuclei bei der Operation im Objekt verblieben waren, da vor der Operation durchschnittlich 15 Macronucleusglieder vorhanden waren. Daß durchschnittlich 15 Micronuclei bei der Operation in den Objekten verblieben sind, ist ebenso unwahrscheinlich, wie, daß sie sich während der Zellteilung um mehr als einen Teilungsschritt vermehrten. Sie müssen sich also schon bei den physiologischen Regenerationen vermehrt haben. Zur Beurteilung der Frage, wie sich die Micronuclei bei rasch wiederholten Regenerationen verhalten, d. h. ob ihre Teilung mit dem Ablauf des Macronucleusformwechsels fest gekoppelt ist, reichen die vorliegenden Präparate noch nicht aus.

Auf Grund des beschriebenen Verhaltens der Membranellenspirale mit den angrenzenden Ectoplasmapierten, des Macronucleus und der Micronuclei fasse ich die physiologische Regeneration von *Stentor* als einen periodisch einsetzenden Wachstumsvorgang auf, was schon JOHNSON (1893), allerdings nur mit Bezug auf den Macro-

nucleus, für wahrscheinlich hielt. Die herkömmliche Auffassung war die, daß die zu regenerierenden Organellen nach längerem Gebrauch erneuerungsbedürftig wären (BALBIANI 1891), daher der Name „physiologische Regeneration“. Ist dies richtig, so ist nicht zu verstehen, wieso der aborale Teil der Membranellenspirale, der nie erneuert wird, sich nicht verbrauchen sollte. Nach einer Angabe von PROWAZEK (1904) werden Membranellen, die infolge von Behandlung mit $\frac{1}{2}$ proz. Kochsalzlösung abgeworfen wurden, durch an Ort und Stelle entstehende Regenerate ersetzt. Ich habe den Versuch wiederholt und in einem Teil der Fälle eindeutig das gleiche Ergebnis erhalten. Man darf wohl ohne weiteres annehmen, daß hier die abgeworfenen Membranellen von ihren Basalstrukturen her, die dabei in der Zelle verbleiben, neu auswachsen. Das muß dann aber auch möglich sein, wenn Membranellen durch längeren Gebrauch erneuerungsbedürftig werden sollten. Regeneration mit Hilfe eines neuen Membranellenbandes ist danach nur dann nötig, wenn auch die Basalstrukturen neuzubilden sind.

Den Anreiz zur Einleitung der Regeneration kann ein zu kleiner Macronucleus oder eine defekte oder zu kleine Membranellenspirale liefern. Wie schon JOHNSON (1893) und STEVENS (1903) geschrieben haben, wirken Defekte am oralen Ende der Membranellenspirale stärker, als solche am aboralen Ende. Schneidet man Peristomtasche und Trichter ab, so befindet sich die Regeneration bei 22° schon nach 4 Stunden im Gang. Hat man die Macronucleusglieder bis auf eines entfernt, so können Tage vergehen bis die Regeneration einsetzt. Daß die durch teilweise oder völlige Abtrennung der Membranellenspirale veranlaßte Regeneration im wesentlichen ebenso verläuft wie die physiologische Regeneration, ist schon in den älteren Arbeiten öfters erwähnt worden, und auch, daß aborale Teile der alten Membranellenspirale dabei ebenfalls weiterverwendet werden können.

Ganz anders als die Regeneration des Peristoms und des Macronucleus erfolgt die Regeneration defekter Oberflächenstreifen. Fig. 6a und b gibt zwei Streifungsstörungen wieder, wie sie bei den Operationen oft entstehen. Beim Verschluß der Wunde heilen die losgerissenen Ectoplasmastücke rasch in ungeordneter Lage aneinander, so daß nun auch einige Streifen quer verlaufen können. Die Regulation der Störung erfolgt unter Resorption einzelner Streifenteile und Auswachsen anderer, wie es in

Fig. 7 a—d gezeigt ist. Die Streifenregeneration geht langsam im Laufe mehrerer Tage vor sich. Selbst Störungen, die im Regenerationsfelde entstanden sind, werden bei Ablauf der physiologischen Regeneration nicht beschleunigt beseitigt. Fig. 8 a—c zeigt einen solchen Fall. Die Bilder sind nach Protokollskizzen gezeichnet, und daher nur schematisch. Streifenzahl und -breite in den einzelnen Bereichen können nicht genau angegeben werden. Die auf Fig. 8 a ge-

zeigte Störung wurde, entsprechend ihrer Lage an der linken Seite des Tieres, beim nächsten Regenerationsablauf ins Peristomfeld verlagert, ohne dabei wesentlich geändert zu werden (Fig. 8 b). Erst im Laufe der nächsten drei Tage erfolgte eine langsame Ausgleichung des Streifenverlaufes unter Resorption der am weitesten ventral gelegenen Peristomfeldstreifen (Fig. 8 c).

Die Regeneration der Oberflächenstreifung und das Wachstum der Zellgröße stehen der Art des Wachstums der Membranellenspirale, des Macronucleus und der Anzahl der Micronuclei gegenüber, denn auch die Zellgröße nimmt langsam und gleichmäßig zu. Man kann daher die physiologische Regeneration nicht als das periodische Wachstum schlechthin, sondern nur als periodisches Wachstum bestimmter Organellen bezeichnen, die zu kontinuierlichem Zuwachsen nicht befähigt sind.

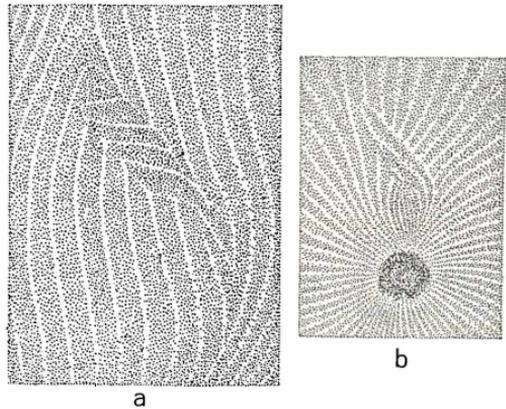


Fig. 6 a u. b. Störungen der Oberflächenstreifung von *Stentor coeruleus*, die durch Operationen herbeigeführt wurden. a An der rechten Seite, b am Hinterende des Tieres. Vergr. 300 fach.

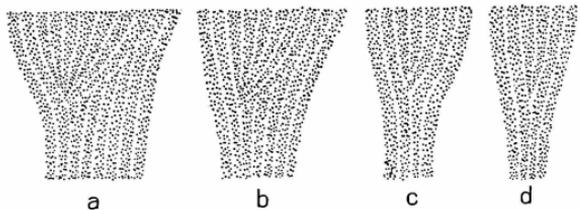


Fig. 7 a—d. Ausgleichung einer Streifungsstörung an der Dorsalseite von *Stentor coeruleus* unmittelbar unter der Membranellenspirale. a 4 Stunden, b 24 Stunden, c 36 Stunden, d 48 Stunden nach der Operation (bei 22°). Vergr. 250—300 fach.

3. Teilung.

Teilungsstadien von *Stentor* sind schon oft abgebildet worden. Dennoch sollen im folgenden einige Bilder aus dem Verlauf der Teilung gegeben werden. Sie dienen zum Vergleich mit der physiologischen Regeneration und geben einige Einzelheiten wieder, die bisher nicht beachtet wurden. Neben den Bildern von fixiertem Material sind Zeichnungen nach dem lebenden Objekt nötig, da die Formveränderung beim Fixieren sehr stark ist.

Fig. 9 und 10 zeigen fixierte Teilungsstadien. Auf Fig. 9 a ist die Anlage eines Membranellenbandes noch nicht zu sehen, aber die intensive Streifenvermehrung an der Grenze von schmalen und breiten Streifen deutet darauf hin, daß eine Teilung eingeleitet wird.

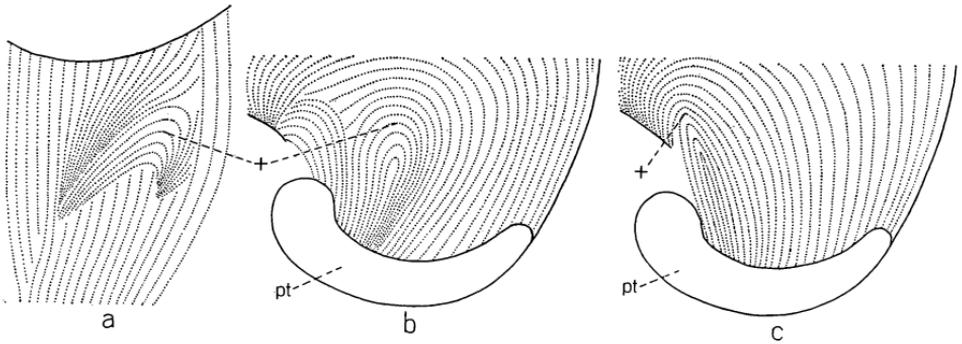


Fig. 8 a—c. Ausgleichung einer Streifungsstörung im Regenerationsfelde. Schematisch nach Protokollskizzen. a Störung im Regenerationsfelde, die durch eine Operation hervorgerufen wurde, b die durch eine physiologische Regeneration ins Peristomfeld verlagerte Störung, c die Störung ist größtenteils ausgeglichen (60 Stunden später als b, bei 22°). + Bezeichnet in den drei Bildern identische Punkte, *pt* Peristomtasche.

Die breiten Streifen werden stärker unterteilt als die schmalen. Dadurch entsteht die gleichmäßig feine Streifung des hier angelegten neuen Peristomfeldes. Bei der Teilung ist ein ganzes Peristomfeld neuzubilden. Dementsprechend ist die Streifenvermehrung stärker als bei der physiologischen Regeneration, bei der nur ein Teil des Peristomfeldes neu entsteht. Auf Fig. 9 b ist die erste Anlage des Membranellenbandes in gleicher Weise vorhanden wie auf Fig. 3 a bei der physiologischen Regeneration. Bis zum folgenden Stadium, Fig. 9 c, wächst die Membranellenbandanlage mit einer starken Krümmung nach apical und ventral vor. In Fig. 9 d ist das Membranellenband fertiggestellt und die Pigmentquerstreifen darin schon vorhanden. Eine vom Membranellenbande aus beginnende abwärts gerichtete Streifenvermehrung ist auf allen frühen Stadien zu sehen.

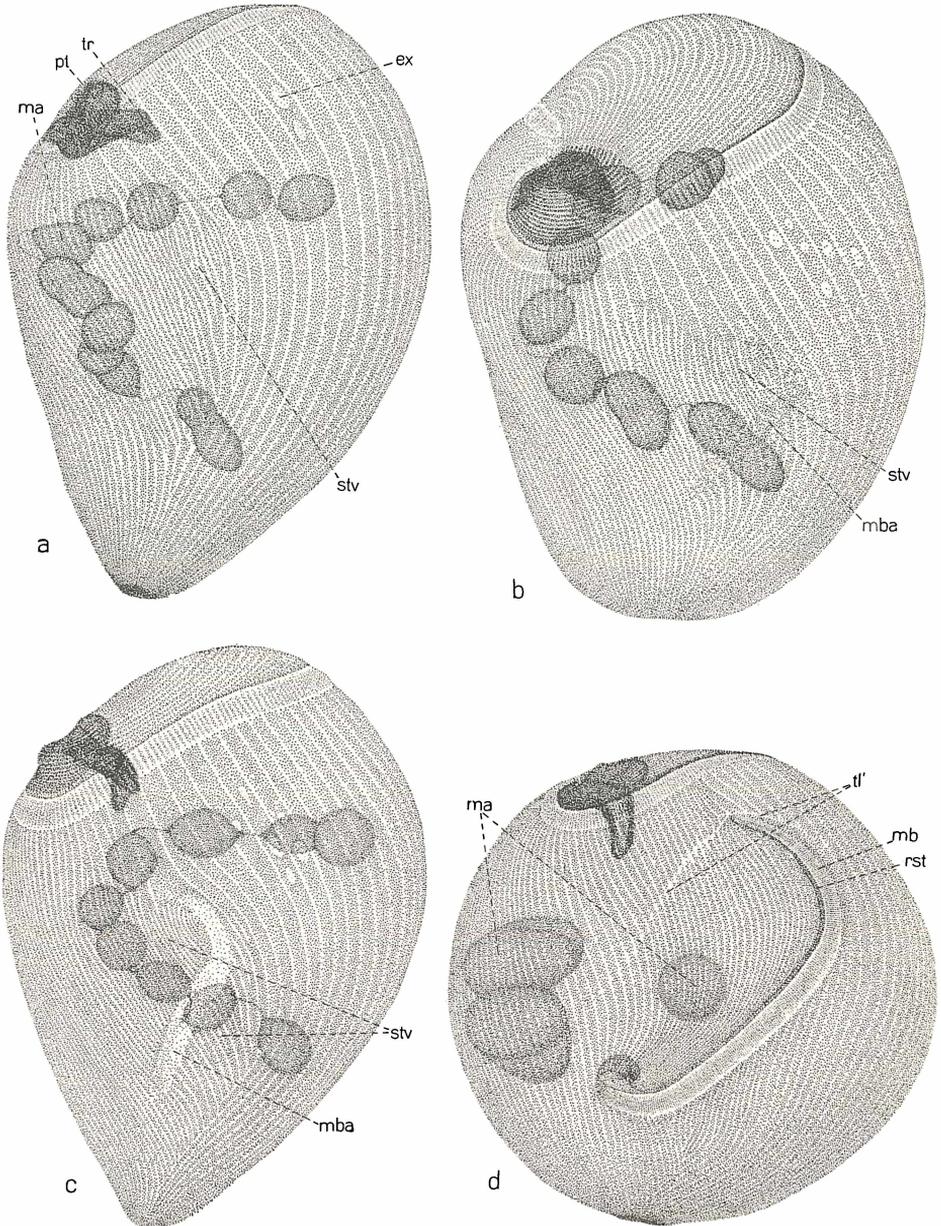


Fig. 9a—d. *Stentor coeruleus* in Teilung. Nach Totalpräparaten. Von der linken Seite gesehen. *pt* und *tr* Peristomatase und Trichter (beide durch die Fixierung deformiert), *ma* Macronucleus, *mb* Membranellenband, *mba* Membranellenbandanlage, *rst* Randstreif, *stv* Streifenvermehrung, *tl* Teilungslinie, *ex* Entleerungsstellen der kontraktiven Vakuole. Vergr. 250fach.

Dabei handelt es sich um eine Vergrößerung des Umfanges in der Gegend, die nachher das Vorderende des hinteren Tochtertieres liefert. Die Teilungslinie, die schon vor der Durchführung der Teilung als helle pigmentfreie Linie sichtbar ist, wird auf dem Stadium Fig. 9d angelegt. Sie beginnt, wie die Figur eindeutig zeigt, vom aboralen Ende des Membranellenbandes aus in zunächst schräg nach

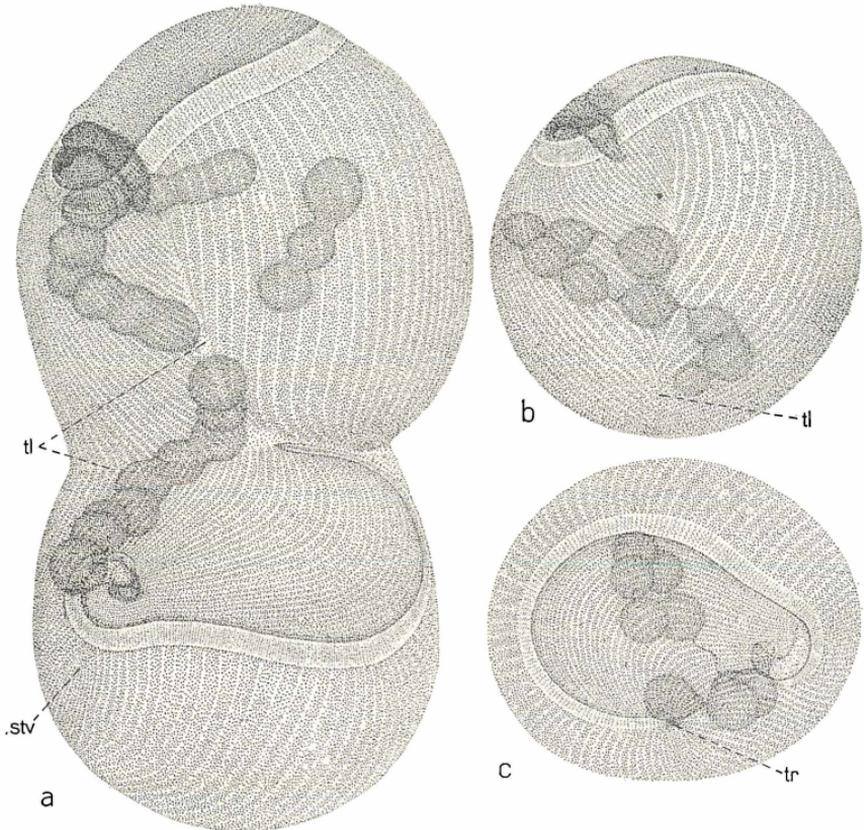


Fig. 10a—c. *Stentor coeruleus* in Teilung. Nach Totalpräparaten. a und b Von der linken Seite gesehen, c in Oralansicht, b Vordertier, c Hintertier unmittelbar nach der Trennung, *tl* Teilungslinie, *stv* Streifenvermehrung, *tr* Trennungsstelle. Vergr. 250fach.

hinten gerichtetem Verlaufe gleichzeitig nach dorsal und ventral vorzuwachsen. Auf der rechten Seite des Tieres verläuft sie genau senkrecht zu den Streifen. Wie Fig. 11c zeigt, beginnt dann das Membranellenband mit dem neuen Peristomfelde sich aus der Seite des Tieres herauszuheben. Sein aborales Ende beginnt gleichzeitig sich abwärts zu bewegen, anscheinend, ohne daß sich das Band dabei verkürzt, denn es zeigt auf diesen Stadien stets besonders

starke Krümmungen. Durch diese Abwärtsbewegung des aboralen Teiles des Membranellenbandes, an der sich das angrenzende Ectoplasma bis zur Teilungslinie beteiligt, wird die Trennung der Tochtertiere eingeleitet. Über der abwärts verlagerten Ectoplasmapartie klafft nicht etwa eine Wunde, sondern das schmalgestreifte Ectoplasma von ventral und das breitgestreifte von dorsal schließen sich sofort zusammen. Das Schema Fig. 12 soll diesen Vorgang veranschaulichen. Die Stadien Fig. 11 d und Fig. 10 a sind fast gleich (Fig. 10 a ist etwas weiter entwickelt) und entsprechen dem des Schemas Fig. 12. Die Teilungslinie folgt also nicht, wie SCHUBERG meinte, der linken Grenze der Verästelungszone, sondern sie durchschneidet von ihrer apicalsten Stelle an auch die breiten dorsalen Streifen schräg. Die Naht zwischen schmalen und breiten Streifen am Vordertier ist am lebenden Objekt völlig geschlossen. Nur beim Fixieren öffnet sie sich ein wenig (Fig. 10 a). Wenn das Membranellenband des Hintertieres auf seine endgültige Höhe verlagert ist, entsteht eine starke Einschnürung in der Teilungslinie. Das Membranellenband schiebt sich, mit seinem aboralen Ende dauernd bis an das Vordertier heranreichend, über die Enden der an der Teilungslinie durchgetrennten Streifen hinweg (Fig. 11 e), die nun senkrecht gegen dieses münden. Dadurch wird die Membranellenspirale des Hintertieres in die richtige Stellung gebracht. Dieses Verhalten der Membranellenspirale zeigt Fig. 11 d—g. Zur Erleichterung des Verständnisses der Bilder sind in Fig. 11 e zwei Punkte am zukünftigen Vorderrande des Hintertieres durch Pfeile markiert. Auf Fig. 11 f sieht man, daß sich das Ende der Membranellenspirale schon über diese Punkte hinweggeschoben hat. Faltungen im benachbarten Ectoplasma deuten auf eine Kontraktion in der Teilungslinie hin. Das völlige Verschwinden der Falten am Hinterende des Vordertieres auf Fig. 11 f bis kurz nach dem Stadium Fig. 11 g zeigt, daß das Ectoplasma sich hier stark verflüssigt hat, wodurch die rasche Herstellung der gestreckten spitzen Form des neuen Hinterendes möglich wurde. Fig. 10 c zeigt das Hintertier aus einer eben zu Ende gelaufenen Teilung.

Man sieht an der Abtrennungsstelle nur ein verhältnismäßig geringes Konvergieren der Streifen. Im übrigen hat sich die Membranellenspirale aber glatt vor die durchschnittenen Streifen der Körperwand gelegt. An dem Vordertier unmittelbar nach der Teilung (Fig. 10 b) sieht man die Streifen an der Teilungslinie gegeneinanderlaufen. So entsteht als Produkt der Teilung, was auch schon SCHUBERG erkannt hatte, der „linke Grenzstreifen der Verästelungszone“, die

Grenze zwischen schmalen und breiten Streifen. In späteren Teilungsstadien, etwa wie Fig. 10a, habe ich stets unter der oralen Umbiegungsstelle der Membranellenspirale des Hintertieres eine Streifen-

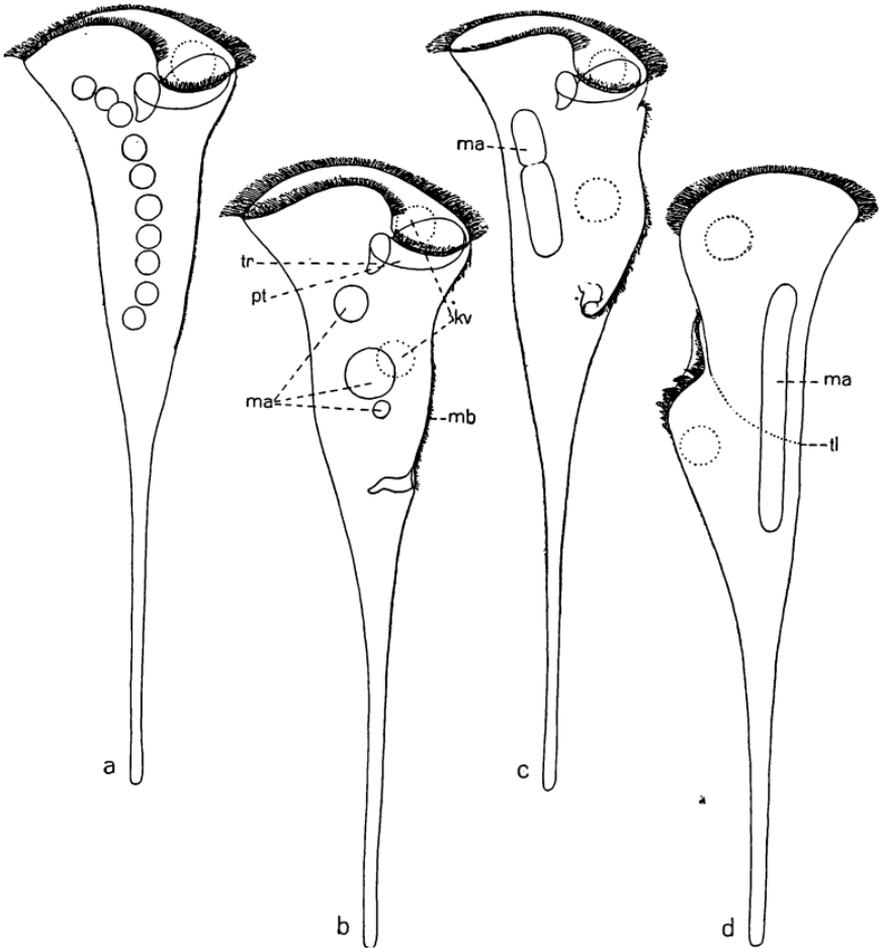


Fig. 11 a—d. *Stentor coeruleus* in Teilung. Nach dem lebenden Objekt mit dem Zeichenapparat gezeichnet. Die Pfeile in e und f geben identische Punkte in den beiden Stadien am Vorderrande des Hintertieres an. *pt* Peristomatase, *tr* Trichter, *kv* kontraktile Vakuole, *ma* Macronucleus, *mb* Membranellenband, *tl* Teilungslinie, *ef* Falten im Ectoplasma. Vergr. 100fach.

vermehrung gefunden, die dem gleichen Vorgang auf späten Stadien der physiologischen Regeneration entspricht.

Es ist in der Literatur schon öfters auf die weitgehende Ähnlichkeit des Ablaufes der Teilung und der physiologischen Regeneration hingewiesen worden. Besonders auffällig sind die Gleichheit des Ortes der Entstehung des neuen Membranellenbandes, die Art

seines Wachstums durch Streckung und Verschiebung gegen das angrenzende Ectoplasma und die Koppelung mit dem Ablauf des Formwechsels des Macronucleus.

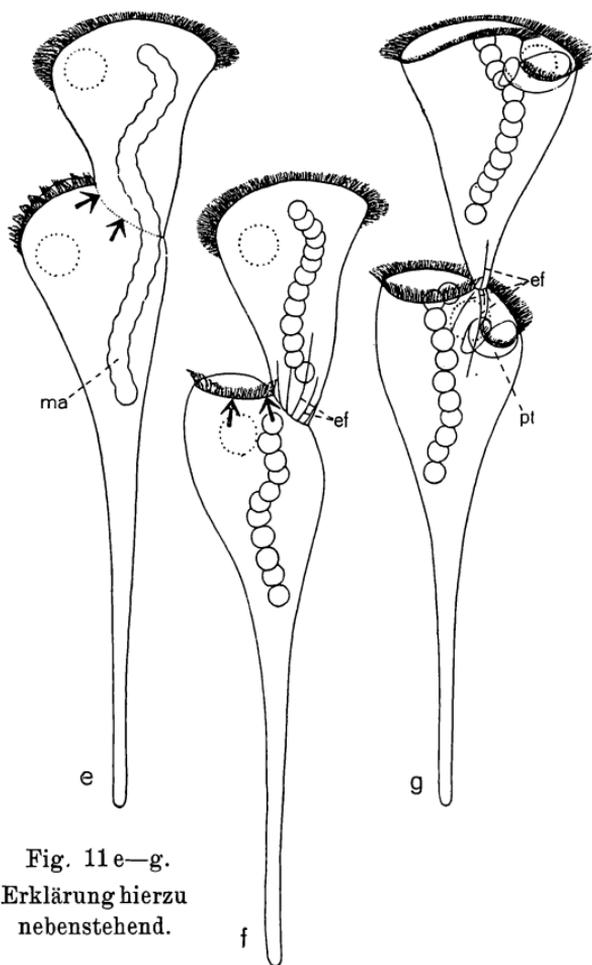


Fig. 11 e—g.
Erklärung hierzu
nebenstehend.

Dennoch sind von den frühesten Stadien an deutliche Unterschiede zwischen der physiologischen Regeneration und der Teilung vorhanden. Die Unterschiede im Habitus fallen beim Vergleich der Fig. 2 und 11 ohne weiteres auf. Ein Unterschied, der schon in den frühesten Stadien auftritt, ist die Art der Streifenvermehrung im zukünftigen Peristomfelde. Die wesentlich stärkere Streifenvermehrung und die Einkrümmung des aboralen Endes der Membranellenbandanlage charakterisieren frühe Teilungs-

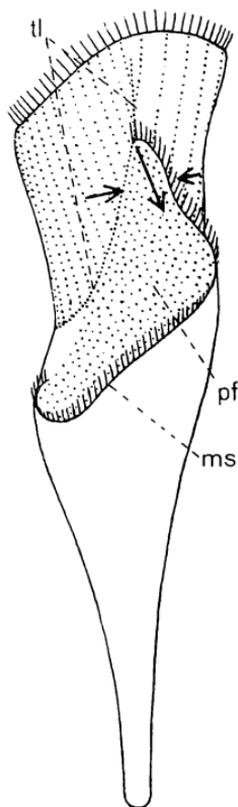


Fig. 12. Schematische Darstellung der Herabverlagerung der Membranellenspirale und des Peristomfeldes des Hintertieres während der Teilung. Am Vordertier ist die Streifung schematisch angegeben. Die Pfeile zeigen die Bewegungsrichtung der betreffenden Ectoplasmapartien an. *tl* Teilungslinie, *ms* und *pf* Membranellenspirale und Peristomfeld des Hintertieres.

stadien, wie auch die Einkrümmung der Streifen des zukünftigen Peristomfeldes, die zunächst (am fixierten Objekt!) der Krümmung der Membranellenbandanlage entgegengesetzt ist. STEVENS (1903) meinte, daß bei der physiologischen Regeneration die Vermehrung der Streifen des neuen Mundfeldteiles sich erst nach dem Aufrücken desselben in die definitive Lage vollziehe (auch noch einen Tag später). Ihre Abbildungen beweisen das aber nicht. Es könnte sich auch um ineinanderlaufende Streifen handeln, etwa an der Grenze zwischen altem und neuem Peristomfeldteile, die sich gar nicht mehr verändern. Ein Unterschied ist schließlich, daß bei der physiologischen Regeneration keine kontraktile Vakuole neugebildet wird.

Teilung und physiologische Regeneration sind also, trotz großer Ähnlichkeit, von den frühesten Stadien ab verschieden verlaufende Vorgänge.

4. Entfernung des Macronucleus.

Die Entfernung des Macronucleus aus *Stentor* ist verhältnismäßig leicht durchzuführen. Für die ersten Versuche benutzte ich Teilungsstadien. Wenn man einen in Teilung befindlichen *Stentor* möglichst nahe an dem geballten Macronucleus oder quer durch diesen durchschneidet, so kann man den Macronucleus bzw. seine Fragmente leicht durch die Wunde entfernen. Die Micronuclei, die in nächster Nähe des Macronucleus liegen, werden dabei oft restlos mit herausgerissen. Manchmal bleiben aber einige in dem Tier zurück. Bei einiger Übung im Operieren läßt sich das Zerschneiden des Objektes auch vermeiden. Man braucht nur einen Einschnitt in der Nähe der Teilungslinie zu machen. Durch diesen kann man den Macronucleus schon mit der Nadel entfernen. So kann man macronucleuslose Stentoren herstellen, denen bis auf geringe Spuren der Wunde keine Folgen der Operation anzusehen sind. Schwerere Schädigungen der Objekte führt man herbei, wenn man die Glieder des in Ruhe befindlichen Macronucleus einzeln entfernt. Doch wenn die Operation sich nicht gar zu lange hinzieht, kommen die Objekte auch dann noch zu gutem Wundverschluß und Formregulierung. Wieviel Micronuclei in meinen macronucleuslos gemachten Stentoren zurückgeblieben sind zeigt die Tabelle 6.

Die Tatsache, daß diese Zahlen gegenüber der durchschnittlichen Anzahl der Micronuclei meines Stentormateriales ($M = 24,87$) sehr klein sind, zeigt, daß die Micronuclei entsprechend ihrer Lage am Macronucleus meist mit herausgerissen

Tabelle 6.

Anzahl der Micronuclei in macronucleuslos gemachten Stentoren. $n = 29$.

Anzahl der Micronuclei	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
Häufigkeit	9	8	3	1		4	1	1		1						1

werden, und daß sie sich nicht ohne weiteres durch Teilung vermehren können.

Fig. 13 gibt ein Totalpräparat eines Fragmentes wieder, das während der Teilung unter Durchschneidung macronucleuslos gemacht

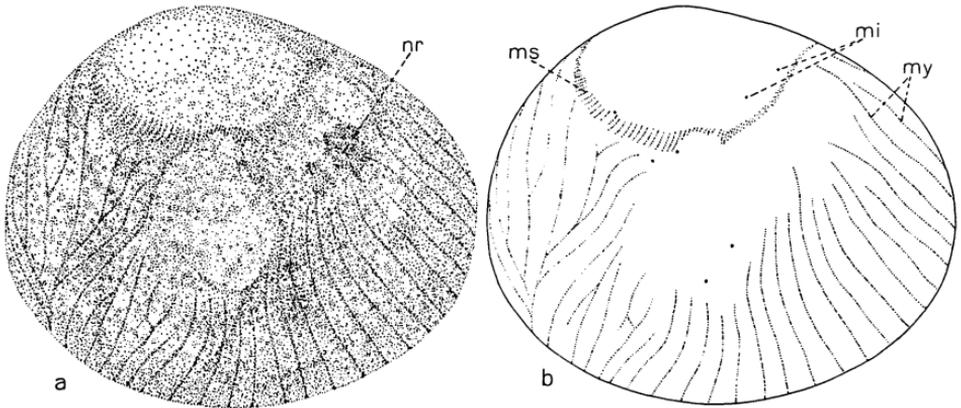


Fig. 13 a—c. *Stentor coeruleus* ohne Macronucleus mit sieben Micronucleis (Totalpräparat, Sublimat—Alkohol—Eisessig—Salpetersäure, Kaliumpermanganat—Oxalsäure, Eisentrioxyhämatein). a Das ganze Objekt, b Lage der Micronuclei, c drei der Micronuclei, *mi* Micronuclei, *ms* Membranellenspirale, *my* Myoneme, *nr* Nahrungsreste. Vergr. von a und b 230fach, von c 950fach.



wurde. In Fig. 13 a ist das Aussehen des ganzen Objektes gezeigt. Die Micronuclei sind eingezeichnet, fallen aber nicht so auf wie im Präparat, weil in der Zeichnung der Farbunterschied zwischen den blau-schwarzen Micronucleis und dem hell bräunlich gefärbten Cytoplasma fehlt. Deshalb habe ich in Fig. 13 b noch einmal die Lage der Micronuclei und der bei dieser Technik sich leicht anfärbenden Myoneme eingezeichnet. Auf Fig. 13 c sind drei der Micronuclei stärker vergrößert gezeigt. Der Nachweis der Micronuclei im Schnittpräparat ist sicherer und daher später auch auf macronucleuslose Objekte ausschließlich angewandt worden.

Die Wunden, die bei der Operation entstehen, werden rasch durch Aneinanderheilen der erhalten gebliebenen Ectoplasmstücke verschlossen. Die Form

wird gewöhnlich noch weitgehend reguliert. Dann setzt aber bald ein Verfall ein.

Die Fig. 14—16 sollen dies veranschaulichen. Der Hergang der Operation ist auf Fig. 14 a—c gezeigt. Aus einem mittleren Teilungsstadium wurde unter Anschneiden des Vordertieres der Macronucleus ohne nennenswerte Plasmaverluste entfernt. Kurz danach war an der Operationsstelle nur eine leichte Einziehung zu beobachten, und die Teilung nahm ungestört ihren Fortgang. Unmittelbar vor der Trennung der Tochtertiere wurde dem Vordertier der orale Teil der Membranellenspirale samt Peristomatase und Trichter abgeschnitten (Fig. 14 c). Fig. 15, a—c zeigt das weitere Schick-

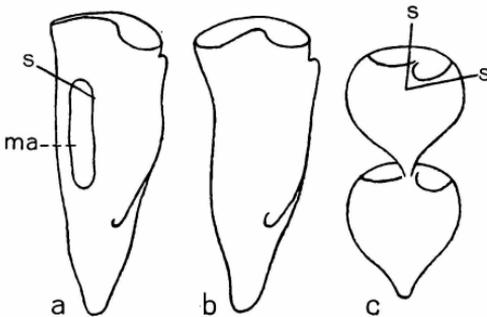


Fig. 14 a—c. Entfernung des Macronucleus während der Teilung. a Vor, b nach Entfernung des Macronucleus, c Abtrennung der oralen Organellen des Vordertieres, *ma* Macronucleus, *ss* Lage der Schnitte.

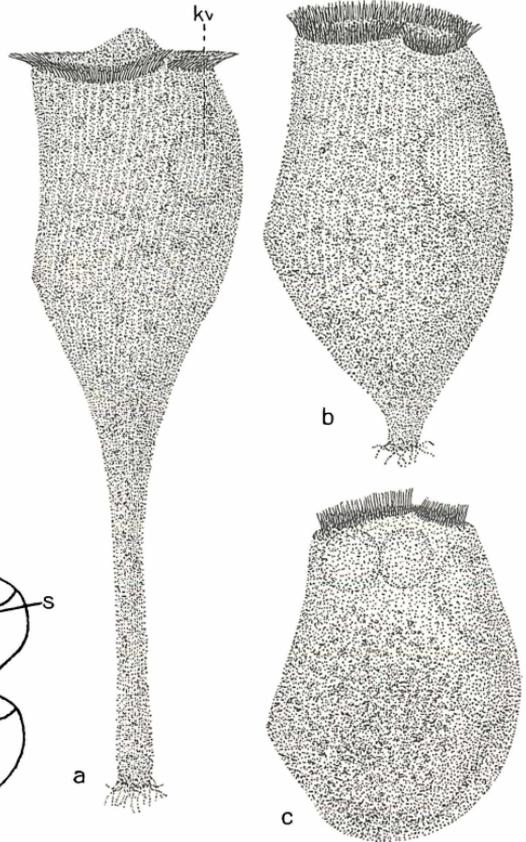


Fig. 15 a—c. Verhalten von *Stentor coeruleus* ohne Macronucleus (Vordertier aus dem auf Fig. 14 wiedergegebenen Versuch). *kv* kontraktile Vakuole. Vergr. 150fach.

sal des Vordertieres, Fig. 16 a—c das des Hintertieres (beide bei 22° gehalten).

Wie auf S. 114 bereits erwähnt, wirkt Abschneiden der oralen Organellen als stärkster Anreiz zur Einleitung des Regenerationsablaufes. Von 140 micronucleuslos gemachten Stentoren hatten mindestens 27 nach dem Zustande ihrer Membranellenspirale extrem

starke Veranlassung der Regeneration derselben. Bei Fehlen des Macronucleus trat die Regeneration aber nie ein.

Fig. 15 a gibt das Vordertier unmittelbar nach Beendigung der Teilung wieder. Fig. 15 b ist 19 Stunden später gezeichnet und 15 c 33 Stunden nach der Teilung. Man sieht den Verfall der äußeren Form und die zunehmende Vakuolisierung.

Große Vakuolen treten besonders im Zuge des zuführenden Kanales der kontraktile Vakuole auf. Der Membranenschlag wird dauernd schwächer. Bei dem auf Fig. 15 a

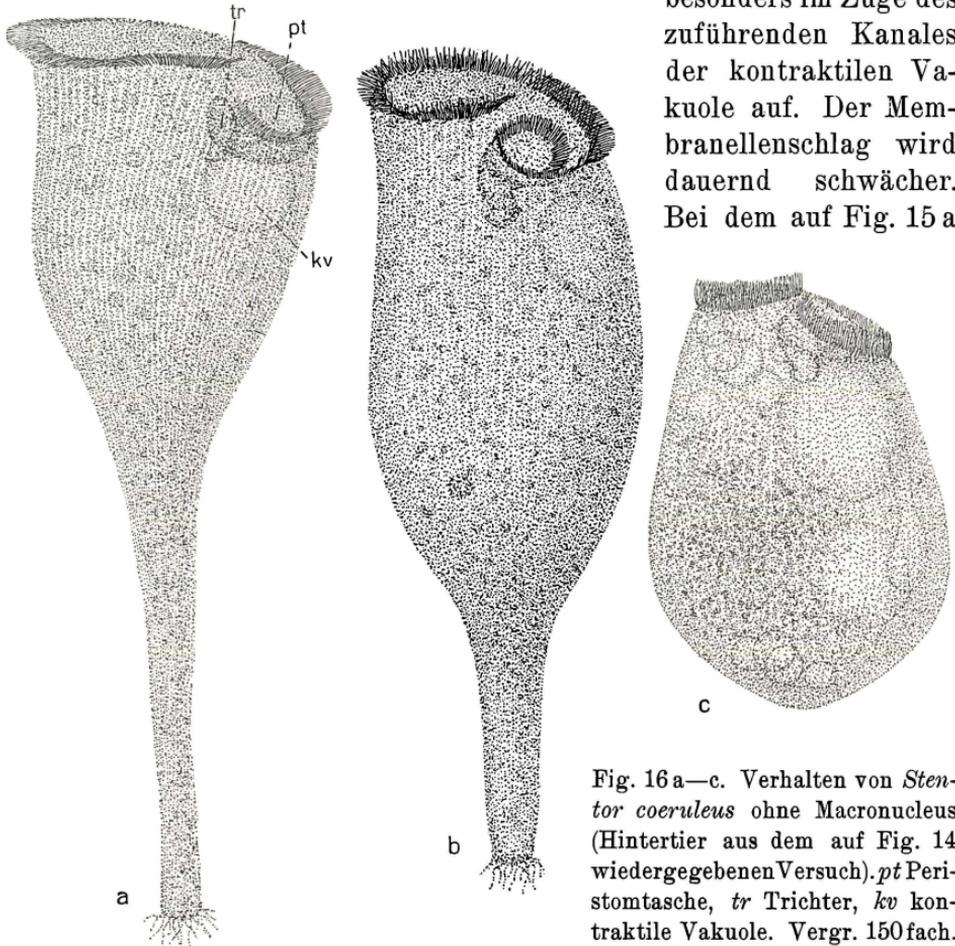


Fig. 16 a—c. Verhalten von *Stentor coeruleus* ohne Macronucleus (Hintertier aus dem auf Fig. 14 wiedergegebenen Versuch). *pt* Peristomtasche, *tr* Trichter, *kv* kontraktile Vakuole. Vergr. 150fach.

gezeigten Zustand schlugen die Membranellen noch lebhaft und ungestört. Später (Fig. 15 b) werden ihre Bewegungen aber ungeordnet, und ein Teil steht völlig still. Kurz vor dem Absterben (Fig. 15 c) zittern sie nur noch leise. Die Entoplasmastromung, die bei dem auf Fig. 15 b wiedergegebenen Zustande noch stark war, ließ bald nach und kam bis zur Erreichung des zuletzt abgebildeten Zustandes völlig zum Stillstand. In gleicher Weise verläuft auch

der Verfall des Hintertieres (Fig. 16 a—e), nur hat er in diesem Falle länger gedauert.

Zum Vergleich mit dem Verhalten des Vordertieres zeige ich auf Fig. 17 ein Objekt, das genau die gleichen Operationen durch-

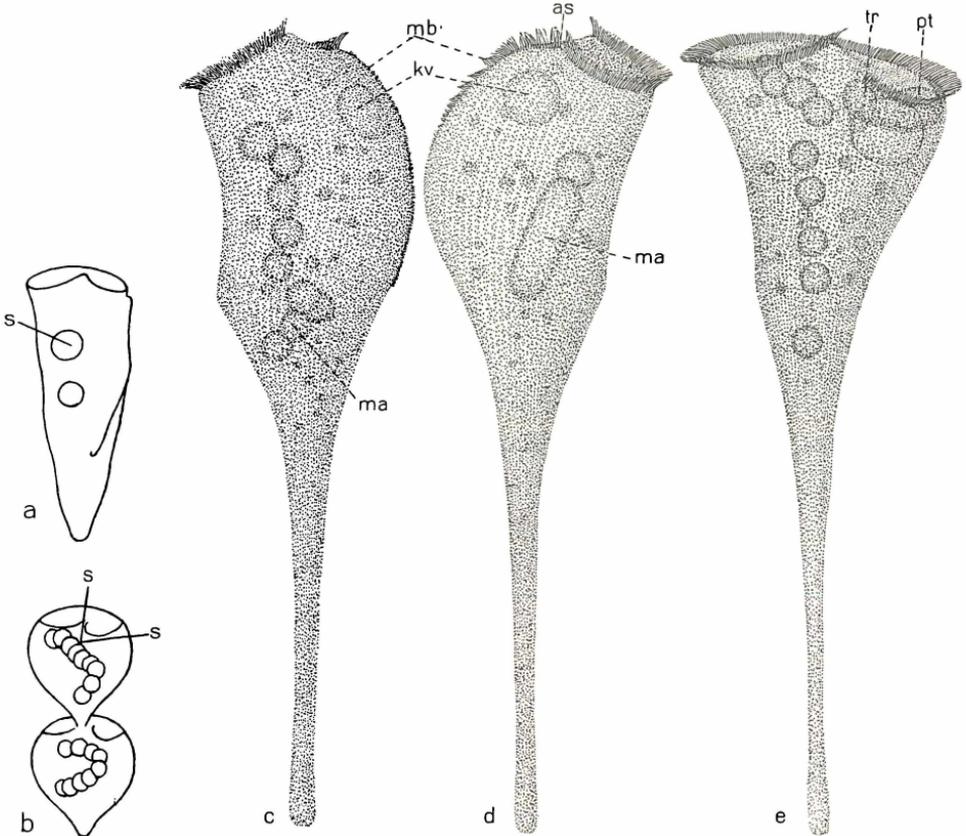


Fig. 17 a—e. Regeneration bei Anwesenheit des Macronucleus (Kontrollversuch zu Fig. 14—16). a Entfernung eines der beiden Macronucleusballen, b Abtrennung der oralen Organellen des Vordertieres, c, d und e zeigen das Vordertier 4, 6,5 und 8 Stunden nach der zweiten Operation, c und e von ventral, d von dorsal gesehen. *ma* Macronucleus, *mb* Membranellenband, *as* Anschlußstelle des Regenerates an den Rest der alten Membranellenspirale, *kv* kontraktile Vakuole, *pt* Peristomatasse, *tr* Trichter, *ss* ungefähre Lage der Schnitte. Vergr. 150fach.

gemacht hat, aber bei der ersten Operation nur einen Teil seines Macronucleus verlor, der hier in zwei Ballen kontrahiert war. 4 Stunden nach der Entfernung der oralen Organellen ist schon das neue Membranellenband zu sehen (Fig. 17 c). 2,5 Stunden später

erfolgt der Anschluß desselben an den Rest der alten Membranellenspirale (Fig. 17d). Im ganzen 8 Stunden nach der Operation ist die Regeneration vollendet (Fig. 17e). Man vergleiche auf Fig. 15a—c und Fig. 17c—e auch das Verhalten der durch die Operation entstandenen kleinen Ectoplasmaerhebung an der rechten Seite des Tieres. Beim macronucleushaltigen *Stentor* schwindet die Unebenheit allmählich, beim macronucleuslosen bleibt sie in viel längerer Zeit unverändert.

Trotz des Erlöschens des Regenerationsvermögens bei macronucleuslosen *Stentoren* können Teilvorgänge der Teilung und Regeneration, wenn sie vor Entfernung des Macronucleus eingeleitet waren, selbst an Fragmenten noch zu Ende laufen, wie es schon STEVENS (1903) und PROWAZEK (1904) beschrieben haben. Fig. 18 gibt einen Fall wieder, in dem einem *Stentor* nach Durchschneidung der Macronucleus entnommen wurde. Das hintere Tier erhielt nur einen Teil

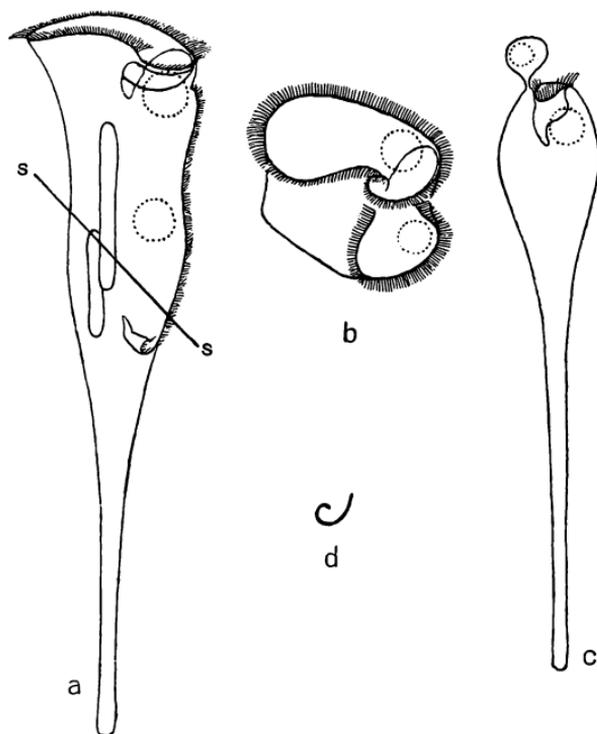


Fig. 18a—d. Entfernung des Macronucleus aus einem Teilungsstadium, nach Durchschneidung des Objektes. a Operation, b vorderes Schnittstück, das sich nicht zu Ende teilte, c hinteres Schnittstück, das die Teilung zu Ende führte, d das Membranellenbandfragment von c von oben gesehen, *mb* Membranellenband, *kv1* und *kv2* die kontraktile Vakuolen des Teilungsstadiums, *kv3* kontraktile Vakuole, die im Verlaufe des zuführenden Kanales neugebildet wurde, *ma* Macronucleus, *ss* Schnittlinie. Vergr. 90fach.

des ihm zukommenden Membranellenbandes und ein kleines Stück des Vordertieres. Dieses Stück teilte sich als ein winziges Fragment ab (derartige Fälle sind schon oft bei Ciliaten beobachtet worden). Peristomtasche und Trichter bildeten sich am hinteren Tiere, wenn auch etwas kümmerlich aus. Sein kurzes Stück Membranellenband

blieb unverändert (Fig. 18 d). Gewöhnlich krümmen selbst so kleine Membranellenbandreste sich noch zu einem Kreise ein (Fig. 19). Diese Ringschließung von Membranellenspiralenstücken findet auch statt, wenn man die Membranellenspirale eines nicht in Teilung befindlichen Stentors zerschneidet, wie es schon STEVENS (1903) angab. Sie ist also eine stets erfolgende Reaktion, die nicht mit der Determination der Teilvorgänge bei der Teilung zusammenzuhängen braucht. Das vordere Fragment aus der auf Fig. 18 a gezeigten Operation führte die Teilung nicht zu Ende. Es zeigt aber gut die Ringbildung des Membranellenbandstückes, das auf diese Weise an ihm verblieb.

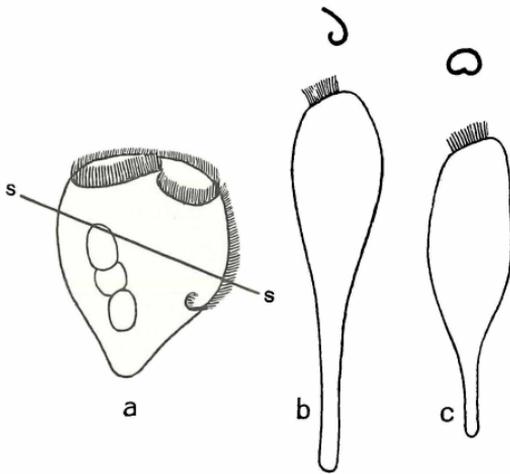


Fig. 19 a—c. Entfernung des Macronucleus während der physiologischen Regeneration, nach Durchschneidung des Objektes. a Operation, b und c das hintere Schnittstück 4 und 20 Stunden nach der Operation. Über b und c das Membranellenbandfragment, das nicht wächst, sondern sich nur einkrümmt von oben gesehen. *ma* Macronucleus, *mb* Membranellenband, *ss* Schnittlinie. Vergr. 90fach.

Die Abteilung so kleiner Fragmente, wie auf Fig. 18 c, und daß sich gelegentlich auch viel größere Stücke nicht abteilen (Fig. 18 b) zeigt, daß die Entfernung der Durchschneidungsstelle von der Teilungslinie keinen Einfluß darauf hat, ob die Teilung zu Ende läuft oder nicht. Ob die Trennung an der Teilungslinie durchgeführt wird, hängt nur davon ab, wie schwere Defekte bei der Operation am Ectoplasma der betreffenden Region gesetzt wurden.

Da auch bei macronucleushaltigen Stentorstücken die Regeneration der Membranellenspirale nicht von deren angeschnittenen Resten ausgeht, sondern die Anlage eines neuen Membranellenbandes nötig ist, und da auch ihre Membranellenspiralenfragmente sich ebenso verhalten, wie bei macronucleuslosen, ist der Unterschied nur der, daß die Einleitung des Regenerationsablaufes nur in Gegenwart des Macronucleus erfolgen kann. Anwesenheit von 1—16 Micronucleis änderte nichts an dem Verhalten der macronucleuslosen Exemplare. Von welchen Stadien an die Teilung und Regeneration ohne Macronucleus

zu Ende laufen können ist noch unklar, da ich nur Stadien mit geballtem Macronucleus und noch spätere operiert habe.

Eine Ausnahme bezüglich der Regenerationsunfähigkeit macronucleusloser Fragmente besteht nur bezüglich der kontraktilen Vakuole. Wenn ich aus Teilungs- oder Regenerationsstadien den Macronucleus entfernte und, nachdem der laufende Entwicklungsvorgang beendet war, große Stücke abschnitt, die sicher außer der kontraktilen Vakuole den ganzen zuführenden Kanal enthielten, so wurde in einem Teil der Fälle eine neue kontraktile Vakuole gebildet. Fig. 20 zeigt solch einen Fall. Die hier nach 3 Minuten vorhandenen Vakuolen im Vorderende traten stets auf, meist in viel größerer Zahl. Entweder entstand dann auch eine Vakuole, die sich periodisch zu kontrahieren begann, oder ich konnte bei Auftreten sehr vieler Vakuolen keine in wiederholter Kontraktion sehen. Einen zuführenden Kanal sah ich nie neu entstehen. Da zu diesem Versuch micronucleuslose Stentoren benutzt wurden, kann man sagen, daß die kontraktile Vakuole ohne Anwesenheit irgendeines Kernes neugebildet werden kann.

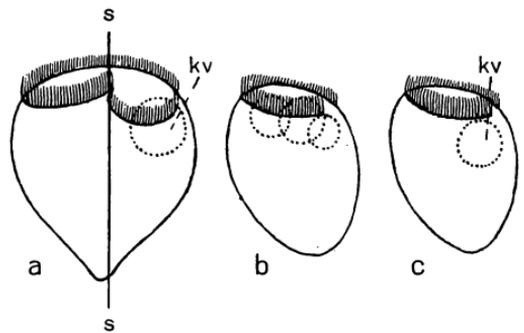


Fig. 20 a—c. Regeneration einer kontraktilen Vakuole in einem macronucleuslosen Fragment. a Operation unmittelbar nach der Teilung, während der der Macronucleus entfernt wurde, b die rechte Hälfte des Objektes 3 Minuten nach der Operation, im Vorderende bilden sich Vakuolen, c dasselbe Fragment 10 Minuten nach der Operation mit einer kontraktilen Vakuole, kv kontraktile Vakuole, ss Schnittlinie.

Störungen der Oberflächenstreifung, die durch die Operation erzeugt wurden, wurden bei Abwesenheit des Macronucleus nicht reguliert. Das ist schon deshalb selbstverständlich, weil die Zeit bis zum Beginne des Verfalles des Objektes viel zu kurz dazu ist (s. S. 124—125).

Bleiben die Nahrungsaufnahmeorganellen bei der Entfernung des Macronucleus unversehrt, so erfolgt dennoch gewöhnlich keine Nahrungsaufnahme mehr. Nimmt solch ein Objekt aber doch noch Nahrung auf, so wird diese nicht normal zu Ende verdaut. Um die Störung des Verdauungsablaufes an Bildern erläutern zu können, muß zunächst einiges über den normalen Ablauf der Verdauung von Colpidien gesagt werden. Das Material dazu ist wie

folgt gewonnen worden. Stentoren, die 24 Stunden lang gehungert hatten, wurden stark mit *Colpidium* gefüttert und nach 2 Stunden in futterfreies Kulturmedium übertragen. Dann wurden alle 3 Stunden je 8 Tiere fixiert und zu Schnittpräparaten verarbeitet. Der ganze Versuch wurde bei 22° durchgeführt. In frühen Stadien der Verdauung (Fig. 21 a—d) zeigen die Colpidien stets dunkel färbbare Einschlüsse. Schon nach 9—11 Stunden langer Verdauung (Fig. 21 e) sind keine solchen mehr vorhanden. Nach 18—20 Stunden sind nur noch kleine Reste der Colpidien übrig (Fig. 21 f), die keine Spur ihres Macronucleus mehr erkennen lassen. Die Präparate können als gleich stark differenziert gelten, da bei ihrer Herstellung auf die Intensität der Färbung der *Stentor*-Macronuclei geachtet wurde.

Einen der wenigen Fälle, in denen macronucleuslos gemachte Stentoren noch Nahrung aufnahmen, zeigen die Fig. 22 und 23.

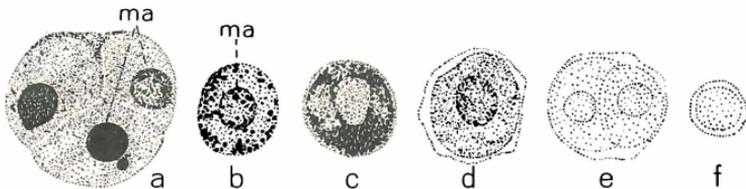


Fig. 21 a—f. Normaler Ablauf der Verdauung von *Colpidium* bei 22°. a und b nach 3—5 stünd., c und d nach 6—8 stünd., e nach 9—11 stünd., f nach 18—20 stündiger Verdauung fixiert. In a befinden sich drei, in e zwei Colpidien in der Nahrungsvakuole, in den anderen je eines. ma Macronucleus der Colpidien (Sublimatalkohol, Einbettung mit Salpetersäurebehandlung, 7,5 μ , Kaliumpermanganat-Oxalsäure, HERNAIN'S Eisenhämatoxylin). Vergr. 830fach.

Auf Fig. 22 a ist das Objekt unmittelbar nach der Entfernung seiner 13 Macronucleusglieder wiedergegeben, auf Fig. 22 b 19 Stunden später (bei 22°). Die Form ist gut reguliert und eine große Menge Colpidien aufgenommen worden. Die Nahrungsvakuolen enthalten aber schon ungewöhnlich viel Flüssigkeit. Nach weiteren 10 Stunden ist der Zustand des Tieres bereits recht schlecht (Fig. 22 c). Die Colpidien sind fast alle nahe dem Hinterende zusammengeballt. Ungefähr eine Stunde später wurde das Objekt fixiert. Fig. 23 zeigt das färberische Verhalten des *Colpidium*-Ballens im Schnittpräparat, das ganz anders ist, als das normal verdauter Colpidien. Die intensive Färbung weicht nur bei sehr langem Differenzieren, langsam von der Mitte her beginnend, wobei als einzige Struktur stellenweise kleine Vakuolen innerhalb der einzelnen, noch von einander abzugrenzen Colpidien hervortreten.

Da der Zustand der nicht zu Ende verdauten Colpidien sich mit keinem Stadium der normalen Verdauung vergleichen läßt, kann

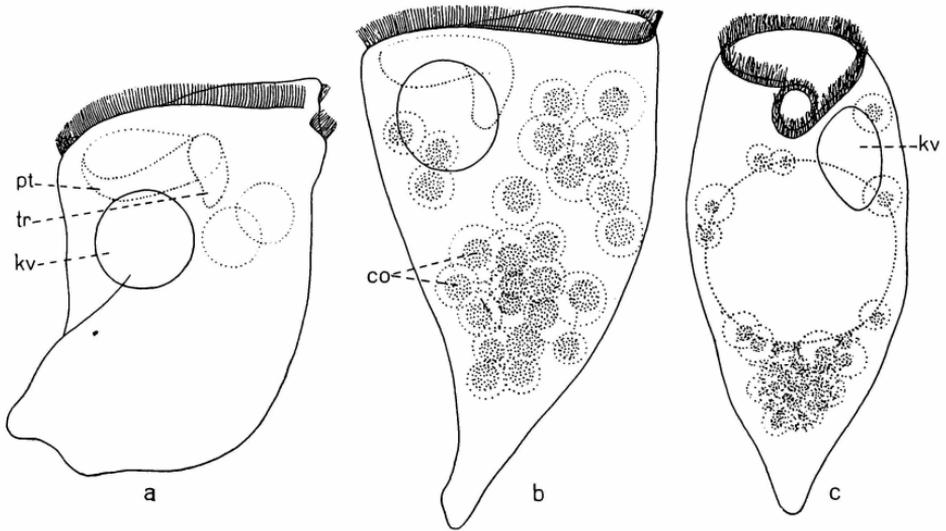


Fig. 22a—c. Nahrungsaufnahme eines macronucleuslosen *Stentor coeruleus*. Schematisch nach Protokollskizzen. a Unmittelbar nach Entfernung der 13 Macronucleusglieder, b und c 19 und 29 Stunden später, co gefressene Colpidien, pt Peristomatase, tr Trichter, kv kontraktile Vakuole. Vergr. 150fach.

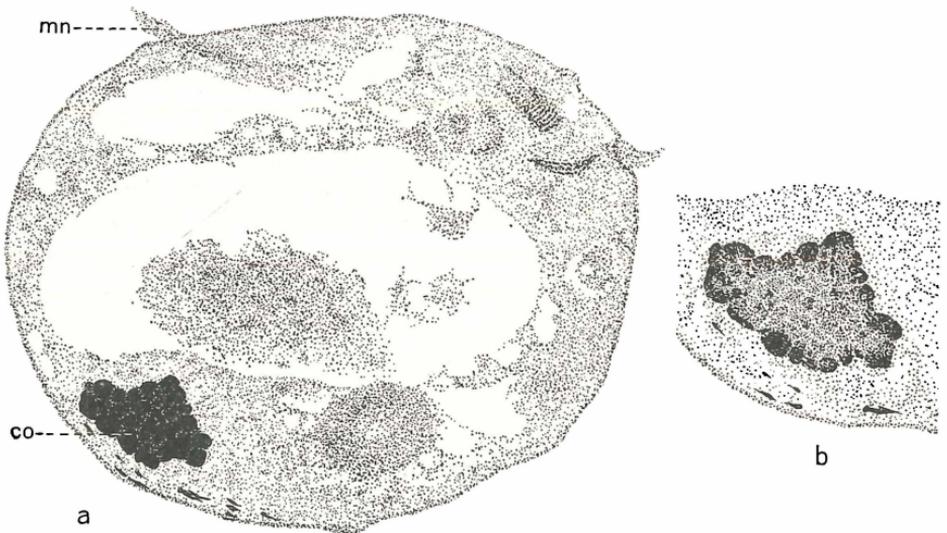


Fig. 23 a u. b. Abnorme Verdauung in dem macronucleuslosen Objekt der Fig. 22. 30 Stunden nach der Operation fixiert. a Längsschnitt, der die zusammengeballten Colpidien enthält, Vergr. 450fach, b der Colpidium-Ballen nach längerem Differenzieren. Vergr. 750fach, mn Membranellen, co Colpidium-Ballen. Technik wie bei Fig. 21.

man schließen, daß die Verdauung in abnorme Bahnen gerät oder ganz unterbrochen, nicht aber nur verlangsamt wird, wenn der Macronucleus fehlt. Micronuclei waren in den abgebildeten beiden Fällen vorhanden (2 und 1). Andere Fälle, in denen mehr oder keine Micronuclei vorhanden waren, boten das gleiche Bild.

PROWAZEK (1904) gibt an, daß in einem macronucleuslosen *Stentor*-fragment eine schon vor der Operation gefressene Vorticella zu Ende verdaut und nachher ausgestoßen wurde. Aber die von ihm lediglich beobachtete Zusammenklumpung des Macronucleus der Vorticella, die bereits tot war, kann ja nicht als Beweis des normalen Ablaufes der Verdauung gelten. Defäkation habe auch ich oft bei macronucleuslosen Tieren gesehen. Daß die Verdauung schon durch die Entfernung eines großen Teiles des Macronucleus erheblich gestört werden kann, zeigt ein Fall, in dem ich einem *Stentor* die Macronucleusglieder bis auf eines nahm. Ein Rotator, das vor der Operation gefressen worden war, wurde in der Zeit von 26—36 Stunden nach derselben noch lebend ausgestoßen. Daß nur die Schädigung durch die Operation die Ursache des Ausfalles der Verdauung war, ist unwahrscheinlich, da das Objekt nach 36 Stunden seinen Macronucleus schon auf 13 Glieder regeneriert hatte und bald zur Teilung kam (Versuch bei 22°). Die gleichen Rotatorien wurden sonst gut verdaut. Entfernung eines großen Teiles des Macronucleus genügt also, um die Stoffwechselfunktionen zu hemmen.

Zum Vergleich der Lebensdauer macronucleusloser Stentoren mit und ohne Micronucleis kann nur ein Teil des vorliegenden Materiales verwendet werden, der unter vergleichbaren Bedingungen gehalten wurde (bei Zimmertemperatur von rund 18—20°). Tab. 7 zeigt, daß ein Unterschied in der Lebensdauer micronucleushaltiger, micronucleusloser und solcher Objekte, bei denen ich Micronuclei nicht sicher nachweisen konnte nicht vorhanden ist. Die Mittelwerte der Lebensdauer aller drei Gruppen liegen bereits innerhalb des einfachen mittleren Fehlers des Mittelwertes der Gruppe mit Micronucleis. Die Ursache des raschen Absterbens der macronucleuslosen Tiere ist nicht ein Verhungern infolge Ausfalles der Nahrungsaufnahme und der Verdauung, sondern eine Störung des gesamten Stoffwechsels. Zu hungern vermögen macronucleushaltige Stentoren unter sonst gleichen Bedingungen wochenlang.

Bei *Stentor* ist also der Macronucleus für sämtliche Funktionen des vegetativen Lebens unentbehr-

Tabelle 7.

Lebensdauer macronucleusloser Stentoren bei Zimmertemperatur von 18—20°.

Kernbestand	Lebensdauer in Stunden $M \pm 3 m$	Absolute Individuen- zahl
micronucleuslos	30,53 \pm 6,09	38
micronucleushaltig	31,78 \pm 10,05	17
Micronuclei nicht sicher nachgewiesen	33,00 \pm 5,46	33

lich. Er kann ohne Konjugation nicht aus dem Micronucleus regeneriert werden.

V. Entfernung der Micronuclei.

Im vorigen Kapitel konnte ich an macronucleuslosen Exemplaren dem Micronucleus keine Funktion im vegetativen Leben zuschreiben. Die Möglichkeit bestand aber zunächst, daß der Macronucleus seine Funktionen nur in Gegenwart der Micronuclei ausüben könnte. Deshalb war es nötig, die Micronuclei bei Erhaltung des Macronucleus zu entfernen.

Die Zahl der Micronuclei meines *Stentor*-Klones schwankte in guter binominaler Verteilung von 10—42 um einen Mittelwert von $M = 24,87 \pm 2,58$ ($n = 63$). Die Micronuclei liegen unregelmäßig an den etwa 7—23 Macronucleusgliedern verteilt oder in deren Nähe (Fig. 24 a u. b). Entfernt man mit der Operationsnadel aus einem *Stentor* die Macronucleusglieder bis auf eines, wobei man nach Möglichkeit das die Macronucleusglieder unmittelbar umgebende Cytoplasma mit herausreißt, so kann man annehmen, den größten Teil der Micronuclei mit entfernt zu haben. Tritt nun die physiologische Regeneration ein, so wächst der Macronucleus auf eine der Zellgröße entsprechende Gliederzahl heran. Die Micronuclei machen dabei einen Teilungsschritt durch (s. S. 113). Nach der Regeneration muß die Zahl der Micronuclei jedenfalls geringer sein, als vor der Operation. Wiederholt man die Operation in der gleichen Weise, so wird die Zahl der Micronuclei weiter herabgesetzt, und man kann damit rechnen, daß nach einigen weiteren Operationen der letzte Micronucleus beseitigt ist. Wenn ich nach solchen Operationen das Ziel erreicht zu haben meinte, oder wenn das Objekt zu klein für weitere Operationen nach einem Regenerationsablauf geworden war, ließ ich das Tier heranwachsen und zur Teilung kommen. Eines der Tochtertiere wurde dann fixiert und geschnitten. Waren keine Micronuclei nachzuweisen, so wurden zur Sicherung des Be-

fundes noch eine größere Anzahl von Nachkommen des betreffenden Objektes untersucht.

Um einen möglichst späten Eintritt der Regeneration herbeizuführen, mußte ich bei den Operationen die Membranellenspirale unverletzt lassen, da ja ihre Beschädigung den Eintritt der Regeneration sehr beschleunigt. Die Hinauszögerung der Regeneration ist wichtig, da das Objekt bis zu ihrem Beginne Zeit zum Fressen und Wachsen hat. Nach der Regeneration muß bald wieder operiert werden, damit nicht noch vor der Operation ein neuer Regenerationsablauf eintritt, der die Zahl der Micronuclei weiter heraufsetzt. Oft habe ich auch 2 Macronucleusglieder im Objekt zurückbleiben

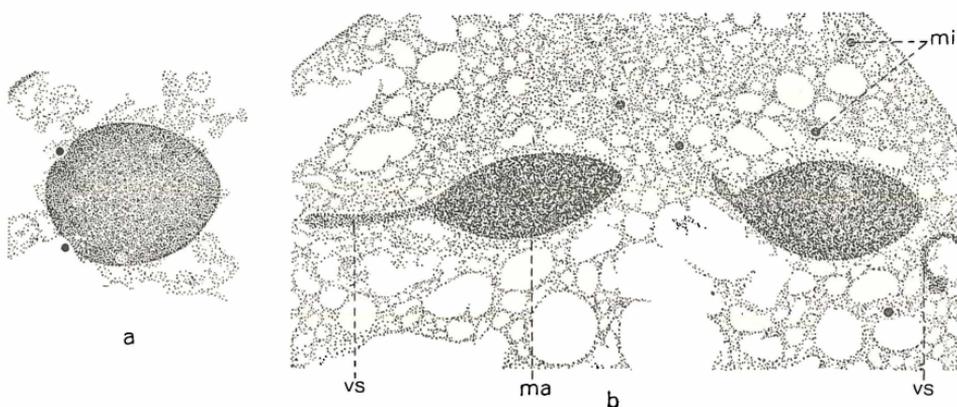


Fig. 24 a u. b. Macronucleusglieder und Micronuclei. a Zwei Micronuclei dem Macronucleus anliegend, b fünf Micronuclei in der Nähe der Macronucleusglieder, *mi* Micronucleus, *ma* Macronucleus, *vs* Verbindungsstücke zwischen den Macronucleusgliedern. Vergr. 950fach. Technik wie bei Fig. 21.

lassen, besonders wenn die Gefahr bestand, daß bei weiterem Operieren die Membranellenspirale verletzt wurde. Es ist schließlich noch vorteilhaft, die Versuchstiere bei tiefer Temperatur zu halten. Der Versuch wird dadurch zwar in die Länge gezogen, aber die Objekte wachsen wesentlich stärker heran, bis die Regeneration eintritt.

In den 2 (von 83) Fällen, in denen die völlige Beseitigung der Micronuclei gelang, wurden 5 Operationen durchgeführt. In anderen Fällen waren nach noch mehr (bis 8) Operationen noch Micronuclei vorhanden. Der erste erfolgreiche Fall ist auf Fig. 25 dargestellt. Die Bilder sind in der Weise gezeichnet, daß die Dimensionen der Tiere mit dem Okularmikrometer gemessen und die Zeichnungen mit dem Millimetermaß gleichmäßig vergrößert hergestellt wurden.

Die Bilder zeigen die Objekte unmittelbar vor und nach den Operationen. Man sieht, daß die 5. Operation insofern mißlungen ist, als das Objekt zerteilt wurde. Ein Bruchstück regenerierte aber noch und kam nach 5 physiologischen Regenerationen 11 Tage später zur Teilung, nachdem es von 120 auf 240 μ herangewachsen war. Der Versuch ist bei 17—22° Zimmertemperatur ausgeführt worden.

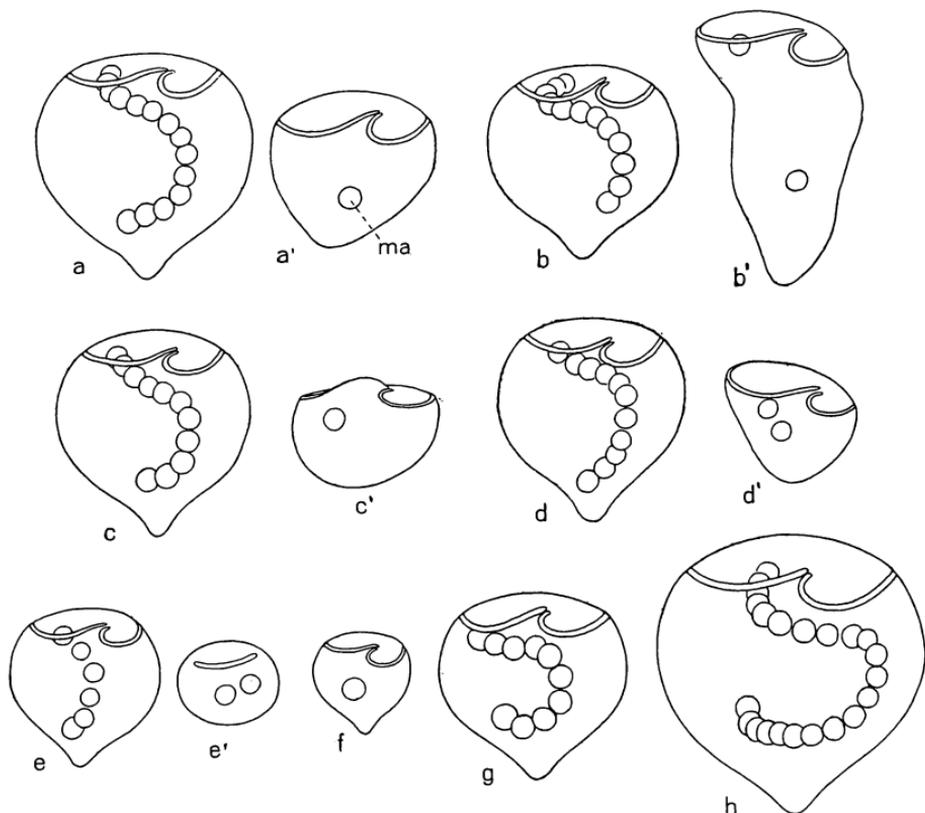


Fig. 25 a—h. Die Entfernung der Micronuclei aus *Stentor*. a—e' 1.—5. Operation, a, b, c, d, e unmittelbar vor der Operation, a', b', c', d', e' unmittelbar nach der Operation, f Regenerat nach der letzten Operation, g dasselbe vor der ersten Teilung, h ein maximal großes Tochtertier desselben nach einigen Teilungsschritten. Vergr. 90fach.

In den 20 Schnittpräparaten, die ich im Laufe der Zeit von den Nachkommen dieses Tieres gemacht habe, ist kein Micronucleus zu finden. Nach einigen Teilungsschritten hatten die größten der micronucleuslosen Stentoren eine Größe von 350 μ (in kontrahiertem Zustand gemessen) erreicht, die der optimalen Größe der Kontrolltiere gleich war. Ein solches optimal großes Tier ist in Fig. 25 h zum Vergleich eingezeichnet.

Als Kontrolltiere wurden Stentoren parallel mit den micronucleuslosen kultiviert, die von einem Tier abstammten, das gleichzeitig die gleichen Operationen durchmachte, wie das Stammindividuum des micronucleuslosen Materiales, das aber Micronuclei behielt. Die Micronucleuslosen machten in der Zeit vom 15. 2. bis zum 10. 3. 1933 bei Zimmertemperatur 5 Teilungsschritte und die Kontrolltiere 4. In der folgenden Zeit bis zum 16. 4. 1933 machten bei 22° die Micronucleuslosen 14 und die Kontrolltiere 15 Teilungsschritte. Der große Unterschied in der Teilungsfrequenz während der beiden Zeitabschnitte beruht nicht nur auf dem Unterschied der Zuchttemperatur sondern auch auf schwächerer Fütterung in der ersten Zeit.

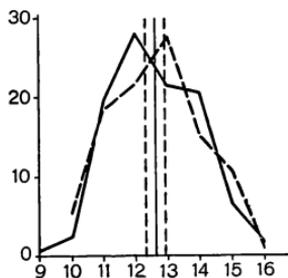


Fig. 26. Größe micronucleusloser und micronucleushaltiger Stentoren. I Micronucleuslose, Mittelwert mit dreifachem mittlerem Fehler $M \pm 3m = 12,62 \pm 0,29$, $n = 179$, II Kontrolltiere, Mittelwert mit dreifachem mittlerem Fehler $M \pm 3m = 12,65 \pm 0,29$, $n = 220$. Abszisse: Länge des Durchmessers der kontrahierten Tiere, 1 Einheit = $16,7 \mu$. Ordinate: Häufigkeit in Prozent der Gesamtzahl n .

Auf der vergeblichen Suche nach Unterschieden zwischen micronucleuslosen Stentoren und Kontrolltieren habe ich in einer Anzahl von Kulturen, die unter gleichen Bedingungen bei 22° gehalten wurden, den Durchmesser sämtlicher Individuen bei Kontraktion gemessen. Das Ergebnis zeigen die Kurven auf Fig. 26. Die Mittelwerte decken sich fast.

Die Durchführung von Regenerationsversuchen war bei diesem Verhalten der Micronucleuslosen überflüssig.

Die Micronucleuslosen, die Kontrolltiere und fast alle Vorratskulturen meines *Stentor*-Klones gingen gleichzeitig in einer Depression von der oben (S. 102) erwähnten Art ein. Es gelang mir damals nicht, durch Mediumswechsel noch vor

dem Aussterben der Versuchstiere eine Besserung herbeizuführen. Den Nutzen der Anwendung tiefer Zuchttemperatur kannte ich noch nicht.

Es war nötig, nochmals micronucleuslose Stentoren herzustellen, um untersuchen zu können, wie lange diese unter günstigen Bedingungen kultivierbar sind. Im Oktober 1933 gelang der Versuch wieder. Die Objekte wurden bei 9–10° gehalten, daher zogen sich die Operationen fast einen Monat lang hin. Seit dem 26. 10. 1933 habe ich das damals erhaltene micronucleuslose Material in Kultur. Bis zum 13. 3. 1934 sind wieder bei den Micronucleuslosen und den

Kontrolltieren je 19 Teilungsschritte abgelaufen. Die geringe Teilungsfrequenz erklärt sich aus der häufigen Anwendung tiefer Zuchttemperatur (9—10°). Das Material ist zur Zeit noch in sehr gutem Zustande.

Es kann also gesagt werden, daß der Micronucleus bei *Stentor* für alle vegetativen Funktionen entbehrlich ist. Wie lange die Züchtung ohne Micronucleus möglich ist, ist noch zu entscheiden.

Zusammenfassung der Ergebnisse.

A. Physiologische Bedeutung des Kerndimorphismus

1. Macronucleuslose Stentoren können lediglich die äußere Form regulieren, wenn diese durch die Operation gestört wurde, und eine neue kontraktile Vakuole bilden. Sie leiten keinen der mit dem Macronucleusformwechsel verbundenen Regenerationsvorgänge ein.

2. Eingeleitete Regenerations- und Teilungsvorgänge und deren Teilprozesse laufen auch nach Entfernung des Macronucleus zu Ende. Von welchem Stadium an sie vom Macronucleus unabhängig sind, ist nicht festgestellt.

3. Wird bei Abwesenheit des Macronucleus überhaupt noch Nahrung aufgenommen, so kann diese nicht normal zu Ende verdaut werden: Die bei 22° 30—35 Stunden lang verdauten Colpidien färben sich noch stark bei Behandlung mit Eisenhämatoxylin, statt färberischer Indifferenz nach spätestens 20 Stunden.

4. Die normale Verdauungstätigkeit wird schon durch die Entfernung eines großen Teiles des Macronucleus behindert.

5. Macronucleuslose Stentoren oder *Stentor*-Fragmente mit und ohne Micronucleis unterscheiden sich in ihrem Verhalten nicht (bezüglich Regenerationspotenz, Verdauung und Lebensdauer).

6. *Stentor coeruleus* ist ohne Micro- mit Macronucleus über viele Generationen hin züchtbar, ohne daß Unterschiede in der Teilungsfrequenz oder Größe gegenüber den Kontrolltieren hervortreten.

7. Regeneration des Micro- aus dem Macro- oder des Macro- aus dem Micronucleus geschieht nicht.

B. Wachstum und Regeneration.

8. Die physiologische Regeneration von *Stentor* dient einem periodischen Wachstum bzw. einer Vermehrung von Organellen, die zu kontinuierlichem Zuwachsen nicht befähigt sind. Diese sind: Macronucleus, Membranellenspirale und Anzahl der Micronuclei. Die

physiologische Regeneration dient aber nicht dem Ersatz von Membranellen, die durch längeren Gebrauch erneuerungsbedürftig geworden sind.

9. Teilung und physiologische Regeneration sind von den frühesten Stadien an verschieden verlaufende Vorgänge.

10. Die zukünftigen Peristomfeldstreifen vermehren sich in beiden Fällen während der Entwicklung des Membranellenbandes, aber bei der Teilung stärker als bei der physiologischen Regeneration.

11. Die Membranellenspirale wächst in beiden Fällen durch Streckung, nicht durch Zuwachs neuer Membranellen.

12. Starke Materialverschiebungen, Resorptions- und Wachstumsvorgänge führen zur Ausbildung der endgültigen Gestalt.

13. Der Macronucleus wächst um Beträge von mehr als 2 Gliedern nur im Regenerationsablauf oder bei der Teilung.

14. Mit Ausnahme einzelner nicht erklärter Fälle wird bei der Regeneration die Zahl der Macronucleusglieder auf ein der Zellgröße entsprechendes Maß gesteigert oder herabgesetzt. Die Stärke des Zuwachses des Macronucleus ist also von der Zellgröße abhängig. Sie ist unabhängig von der zu Beginn der Regeneration vorhandenen Macronucleusgliederzahl.

15. Bei der Veränderung der Gliederzahl ist die Veränderung der Größe der Gesamtoberfläche des Macronucleus maßgebend.

16. Einzelnen im Objekt verbliebene Macronucleusglieder vergrößern ihre Oberfläche durch Deformation.

17. Veränderung der Macronucleusgliederzahl durch Verschmelzung und Wiedertrennung einzelner Glieder kommt vor.

18. Die Regeneration der durch Operationen gestörten äußeren Form und Oberflächenstreifung und das Wachstum der Zellgröße erfolgen langsam und ohne Zusammenhang mit der physiologischen Regeneration.

Literaturverzeichnis.

- BALBIANI, E. G. (1891): Sur les régénérations successives du péristome comme caractère d'âge chez les Stentors et sur le rôle du noyau dans ce phénomène. *Zool. Anz.* Bd. 14.
- (1891—1893): Nouvelles recherches expérimentales sur la mérotomie des Infusoires ciliés. *Arch. microgr.* Vol. 4 et 5.
- DEMBOWSKA, W. S. (1925): Studien über die Regeneration von *Stylonychia mytilus*. *Roux. Arch.* Vol. 104.
- (1926): Studies on the Regeneration of Protozoa 2. Regeneration of the Ciliary Apparatus in some Marine Hypotricha. *Journ. Exp. Zool.* Vol. 43.

- GRUBER, A. (1893): Mikroskopische Vivisektion. Ber. d. naturf. Ges. zu Freiburg i. Br. Bd. 7.
- JOHNSON, H. (1893): A Contribution to the Morphology and Biology of the Stentors. Journ. of Morph. Vol. 8.
- MORGAN, T. H. (1901): Regeneration of Proportionate Structures in *Stentor*. Biol. Bull. Vol. 2.
- PROWAZEK, S. (1904): Beitrag zur Kenntnis der Regeneration und Biologie der Protozoen. Arch. f. Protistenk. Bd. 3.
- SCHUBERG, A. (1891): Zur Kenntnis des *Stentor coeruleus*. Zool. Jahrb. f. Anat. Bd. 4.
- SCHWARTZ, V. (1934): Versuche über Regeneration und Kerndimorphismus der Ciliaten. Nachr. d. Ges. d. Wiss. zu Göttingen. Mathem.-Phys. Klasse.
- STEVENS, N. M. (1903): Notes on Regeneration in *Stentor coeruleus*. Roux. Arch. Vol. 16.
- TAYLOR, C. V. and FARBER, W. P. (1924): Fatal Effects of the Removal of the Micronucleus in *Euplotes*. Univ. of Calif. Publ. in Zool. Vol. 26.
-

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

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

Jahr/Year: 1935

Band/Volume: [85_1935](#)

Autor(en)/Author(s): Schwartz Viktor

Artikel/Article: [Versuche über Regeneration und Kerndimorphismus bei Stentor coeruleus Ehrbg. 100-139](#)