Nachdruck verboten.
Übersetzungsrecht vorbehalten.

Aus dem Erbwissenschaftlichen Forschungsinstitut des Reichsgesundheitsamtes Berlin-Dahlem (Leiter Prof. Dr. G. Just).

Cytologische Untersuchungen an einem normalen und einem Micronucleus-losen Stamm von *Colpoda steini* Maupas.

Von

Dr. Gerhard Piekarski.

Mit Tafel 5—7.

Unter den Protozoen nehmen die Ciliaten durch ihre eigenartigen Kernverhältnisse eine Sonderstellung ein. Während die übrigen Einzeller meist einen einzigen Zellkern besitzen, haben die Ciliaten in der Regel zwei Kerne, die sich durch ihre Größe zu unterscheiden pflegen, einen Micronucleus (Mi) und einen Macronucleus (Ma).

Im Zusammenhang mit genetischen Untersuchungen an einem Stamm von *Colpoda steini* war es notwendig, die genauen Kernverhältnisse dieses Ciliatenstammes zu prüfen. Dabei ergab sich die überraschende Tatsache, daß dieser Protozoenstamm keinen Micronucleus besitzt. Trotz Anwendung der verschiedensten Fixierungsmittel und Färbemethoden konnten wir in keinem Falle einen zweiten Kern neben dem typisch ausgebildeten Großkern beobachten. Bei einem aus einem Moosaufguß neu isolierten Klon derselben Art dagegen ließ sich der Kleinkern bei geeigneter Färbung in jedem Falle nachweisen, so daß wir das Fehlen des Kleinkerns in dem seit etwa 6 Jahren von uns kultivierten „alten" Stamm als gesichert ansehen dürfen.

Unser Mi-loser Ciliatenstamm wurde uns im Jahre 1932 vom Anatomischen Institut der Universität Hamburg überlassen und bis vor fast 3 Jahren auf Ciliatenagarplatten gezüchtet. Zu Beginn der genetischen Untersuchungen legten wir einen Klon an, der das

Ausgangsmaterial für unsere Arbeiten bildete. Schon die damals — im März/April 1936 — angefertigten Präparate ließen den Micronucleus (Mi) vermissen, was zunächst einer mangelhaften Technik zugeschrieben wurde, bis durch die oben erwähnte Gegenprobe das tatsächliche Fehlen des Mi nachgewiesen werden konnte. Dementsprechend können wir über die Ursache des Mi-Verlustes nichts aussagen.

Die ersten Untersuchungen, bei denen derartige Abweichungen vom normalen Zustand gefunden wurden, gehen auf MAUPAS zurück, der bei dem Ciliat *Stylonychia pustulata* kleinkernlose Formen fand. Seitdem sind kleinkernlose Stämme bei verschiedenen anderen Arten beobachtet worden. Die bis zum Jahre 1934 bekannt gewordenen Fälle sind von IVANIĆ (1934a) zusammengestellt worden. Er selbst beschreibt in einer zweiten Arbeit (1934b) zwei Konjugationspaare zwischen einem kleinkernlosen und einem normalen Tier bei *Amphileptus* spec. . . . 1935 erschien eine Arbeit von V. SCHWARTZ über *Stentor coeruleus*. Es gelang ihm, die Micronuclei aus der Zelle zu entfernen und einen Mi-losen Stamm zu züchten. Er kommt zu dem Ergebnis, daß der Micronucleus bei *Stentor* für alle vegetativen Funktionen entbehrlich ist.

Zu der gleichen Erkenntnis kamen wir auch bei dem Vergleich unserer beiden Ciliatenstämme. Das Fehlen des Mi hatte keinen erkennbaren Einfluß auf das Verhalten der Tiere. Der Ma genügte zur vollen Erhaltung der vegetativen Funktionen. Die Ciliaten vermehrten sich stets gut und zeigten gegenüber dem normalen Mihaltigen Stamm keinerlei abweichende Eigenschaften. Sie bildeten auch unter entsprechenden Bedingungen Dauercysten, die nach Beobachtungen von PATTEN (1921) bei einem Mi-losen Stamm von *Didinium nasutum* unterbleibt. Ferner konnten wir weder bei unserem Mi-losen noch bei dem sog. Moosstamm jemals Konjugationen beobachten. Diese Tatsache erscheint für den Mi-losen Stamm nicht weiter vorwunderlich, wenn man bedenkt, daß dem Mi eine wesentliche Bedeutung beim Konjugationsgeschehen zukommt. Auf seinem Vorhandensein beruht der ganze Reorganisationsprozeß, der bei Abwesenheit eines Kleinkerns naturgemäß ausbleiben muß. Dementsprechend wird auch von den meisten Mi-losen Ciliatenstämmen berichtet, daß sie niemals konjugierten. Vier Ausnahmen sind mir bekannt geworden.

PATTEN fand bei einem Mi-losen Stamm von *Didinium nasutum* Konjugationspaare, die aber nicht lebensfähig waren, sondern abstarben. Die gleiche Beobachtung machten WOODRUFF und SPENCER bei *Spathidium* (nach BĚLAŘ, 1926, p. 194). IVANIĆ konnte zwei Konjugationspaare von *Amphileptus* spec., die aus je einer normalen und einer kleinkernlosen Zelle bestanden, untersuchen. In dem normalen Tier fand die Kernteilung in der üblichen Weise statt; es bildete sich der stationäre und der Wanderkern. Da der Autor nur zwei Paare untersuchen konnte, vermochte er den

weiteren Fortgang der Konjugation zwischen diesen ungleichen Partnern nicht anzugeben. Er fügt seinen Angaben aber die Bemerkung bei, daß auf diesem Wege ein Mi-loses Tier zu einem Mi-haltigen, und unter Umständen aus einem diploiden ein haploides Ciliat entstehen könnte. Immerhin ist aus diesen Fällen zu schließen, daß eine gewisse Konjugationsbereitschaft nicht unbedingt an die Existenz des Micronucleus gebunden ist. Erwähnenswert sind dann noch Beobachtungen, die Dawson an einem Mi-losen Stamm von *Oxytricha hymenostoma* machen konnte. Er fand gelegentlich Tiere, die am vorderen Körperteil miteinander verschmolzen waren und diese Vereinigung oft lange Zeit beibehielten. Sie starben dann entweder ab oder trennten sich wieder ohne irgend eine Schädigung zu zeigen. In anderen Fällen entstanden durch dorsale Plasmaverschmelzung Zwillinge, die sich zu teilen vermochten und sich unter günstigen Bedingungen kultivieren ließen. Ferner beobachtete Dawson in diesem Mi-losen Stamm Kannibalismus. Der Autor vertritt die Auffassung, daß die einfache Paarung, der Kannibalismus und die Zwillingsbildung „Ausdruck der gleichen physiologischen Bedingung" darstellen, als abortive Konjugationsversuche zu deuten und im Fehlen des Micronucleus begründet sind. —

Ein Wort zur Artcharakteristik: Wir haben unseren Stamm als *Colpoda steini* bezeichnet, weil die bei Kahl für diese Art der Gattung *Colpoda* angegebenen Merkmale zum größten Teil auf unseren Stamm zutreffen. Leider herrscht gerade in dieser Gattung eine recht erhebliche Unklarheit in bezug auf die Artcharakterisierung. Es sei auf folgende Differenzen in den Artbestimmungen hingewiesen: Bresslau (1921) publiziert Abbildungen einer *Colpoda*-Art (Opalblaumethode), die er als *Colpoda steini* anspricht. Kahl (1935) dagegen ist der Auffassung, daß die von Bresslau photographierte Art irrtümlich als *C. steini* bezeichnet worden ist, und in Wirklichkeit wohl *C. aspera* heißen muß. Die Amerikaner Taylor und Furgason (1938) wiederum halten die Bezeichnung von Bresslau für richtig („it appears justifiable to regard the species studied by Bresslau as *C. steini*"), zugleich unterstreichen sie aber die Ausführungen Kahls, in denen er auf die sehr schwierige Systematik dieser Gattung hinweist.

Unsere Stämme zeigen im wesentlichen die Kennzeichen, die von Kahl (1930, p. 281) für die Art *Colpoda steini* als charakteristisch angegeben werden. Der Kiel trägt fünf bis sieben „Rippen". Die Gestalt schwankt zwischen einer schlanken, hinten schwach zugespitzten und einer breiten, über halbkreisförmig gerundeten Form. Die erste dieser beiden Formen findet man hauptsächlich in Kulturen, deren Ernährungsverhältnisse schlecht geworden sind, während die zweite meist in bakterienreichen Medien gefunden werden können. Die Körpergröße liegt bei 30 μ. Die Cilienanordnung geht aus der Fig. 1 (Taf. 5) hervor, die nach einem Opalblaupräparat gefertigt wurde. Vom Kiel erstrecken sich acht Reihen von Wimpern am ganzen Zellkörper

entlang (je vier auf jeder Körperseite). Je zwei weitere Wimpernreihen liegen unterhalb der Mundöffnung. Die Cilien sitzen immer paarweise nebeneinander, sind auffallend lang und nicht sehr zahlreich. Während sie am Kiel verhältnismäßig dicht angeordnet sind, verteilen sie sich über den größten Teil des Zellkörpers in größeren Abständen (vgl. die Abbildung). Merkwürdig ist an der Cilienverteilung, daß sie bis auf eine Stelle ganz regelmäßig und gleichbleibend ist. In der zweiten Cilienreihe fehlt bei unserem Stamm I (Mi-los) bei den meisten Tieren ein Wimperpaar am Ende der Reihe. Der kleinkernhaltige Moosstamm dagegen besitzt dieses Wimperpaar meist, und nur in Ausnahmefällen fehlt es. Diese Unterschiede scheinen mir aber unwesentlich und keine Artmerkmale zu sein.

Der Großkern, auf den weiter unten noch genauer eingegangen wird, hat die für *Colpoda steini* von KAHL (1935) und ENRIQUES (1908) als typisch angegebene Gestalt. Er ist oval und trägt einen homogenen, kugelrunden Binnenkörper. In dem normalen Stamm liegt diesem Macronucleus der Kleinkern außen an. Er ist länglich, etwa kommaförmig und 2,5 μ lang und 1 μ breit (Taf. 5 Fig. 2).

Die Vermehrung findet in typischer Weise innerhalb einer Vermehrungscyste statt, aus der in der Regel vier Tochterindividuen schlüpfen; sehr selten entstehen zwei, einmal schlüpften aus einer Cyste nur drei Tiere.

Diese Angaben dürften die Artbezeichnung unserer Stämme als *Colpoda steini* rechtfertigen. Danach bedarf die Artangabe bei der Photographie von BRESSLAU, wie schon KAHL bemerkte, einer Korrektur, während z. B. die Artangabe REICHENOWS (1928) für den von ihm wiedergegebenen Kern völlig zu Recht besteht und sich ganz in Übereinstimmung mit den Angaben von ENRIQUES befindet.

Eine Frage bleibt noch, ob die von TAYLOR und FURGASON neu aufgestellte Art wirklich zu Recht besteht oder ob die Art *C. duodenaria* mit der Art *C. steini* identisch ist. Mir will es erscheinen, als ob die amerikanischen Autoren nur eine eingehende Beschreibung von *C. steini* gegeben haben — zumal sie offenbar die Art *C. aspera* irrtümlicherweise für *C. steini* halten (vgl. KAHL, p. 281, Nr. 31)[1].

[1] Anmerkung bei der Korrektur: Auf eine Anfrage hin bestätigte mir Herr KAHL, Hamburg, daß die neue Art *Colpoda duodenaria* „tatsächlich der *C. steini* typisch bis auf die recht derbe Schwanzwimper völlig gleicht. Trotzdem" schreibt mir Herr KAHL, „würde ich sie als besondere Art anerkennen, da die Schwanzwimper in dieser Gattung einzig ist und daher hohen diagnostischen Wert hat; dazu kommt das Habitat . . ." Herrn A. KAHL danke ich nochmals bestens für die vorgenommene Prüfung und Herrn TAYLOR für freundliche Zusendung seines *duodenaria*-Stammes.

Untersuchungstechnik.

Die Zucht der Ciliaten wurde in Boveri-Schalen vorgenommen, die in etwa 3 cm hohen Doppelschalen standen, um eine übermäßige Verdunstung zu verhindern, zugleich aber auch die Handhabung zu erleichtern (Taf. 5 Fig. 3). Die Protozoen wurden ausschließlich mit *Bacterium coli* gefüttert. Als Medium diente die Nährlösung nach Pringsheim.

Zur Untersuchung der Kernstrukturen haben wir eine große Zahl verschiedener Fixierungs- und Färbemethoden verwendet, von denen nur die angeführt werden sollen, die sich am geeignetsten erwiesen.

Fixiert wurde mit Methylalkohol, Sublimatalkohol-Eisessig oder Sublimatsalpetersäure (Sublimat 20 g, 60proz. Alkohol 100 ccm, dest. Wasser 880 ccm, Salpetersäure spez. Gew.: 1,4 15 ccm, Eisessig 4 ccm) und zwar in der Regel 5—10 Minuten. Aus dem Methylalkohol kamen die Präparate in 80proz. Äthylalkohol und durch die Alkoholreihe in Wasser. Nach Sublimatgemischfixierung wurden sie über 80proz. Alkohol-Jodalkohol-Alkoholreihe in Wasser gebracht und danach gefärbt.

Von den Färbemethoden erwiesen sich drei als besonders geeignet: die Nuclealreaktion nach Feulgen, die Methode nach Mann (von uns modifiziert) und die Färbung mit Eisentrioxyhämateïn nach Hansen. Bei der Nuclealreaktion gab eine Hydrolyse von 10—15 Minuten die kräftigste Färbung. — Das Mannsche Farbgemisch wurde in folgender Weise verwendet: die Präparate kamen auf 10—15 Minuten in die Farblösung (22 ccm Mannsche Lösung (1 Teil 1proz. wässerig Methylblau, 1 Teil 1proz. wässerig Eosin, 3 Teile dest. Wasser), dazu 5 ccm 1proz. wässerig Eosin), dann zur Differenzierung, die unter dem Mikroskop verfolgt wurde, direkt in ein Gemisch von 10 ccm 70proz. Alkohol und 3—6 Tropfen Kaliumhydroxyd, weiterhin dann in 80proz. Alkohol, 96proz. Abs. Alkohol-Xylol-Balsam. Bei der Färbung nach Hansen benutzten wir die Farbe mit dem von Romeis zur Erzielung einer reinen Chromatinfärbung empfohlenen Zusatz von 1proz. Schwefelsäure. Das Ergebnis dieser Methode war aber recht verschieden und trotz Differenzierung nicht immer zufriedenstellend (Färbedauer 1—3 Minuten). Außer diesen drei Methoden kam noch die Heidenhainsche Eisenhämatoxylinfärbung zur Anwendung. Sie bewährte sich aber nur bei vegetativen Formen; die Vermehrungscysten färbten sich sehr schlecht. Trotz Variation der Beiz- und Färbedauer entfärbten sich die Cysten ganz gleichmäßig ohne selektive Kernfärbung. Allem Anschein nach liegt dieser Umstand an den die ganze Zelle dicht erfüllenden Nahrungsballen, die sich stark mitfärben und beim Differenzieren die Farbe ebenso langsam abgeben wie der Zellkern.

Um gut besetzte Präparate zu erhalten, benutzten wir zum Teil Meerschweinchenserum: in einen möglichst kleinen Serumtropfen wurden die Ciliaten (vegetative Formen und Vermehrungscysten) hineingebracht, auf dem Deckglas oder Objektträger etwas ausgebreitet und fixiert. Oder es wurde ein Tropfen mit recht vielen Ciliaten auf einem fettfreien Deckglas ausgebreitet und die Flüssigkeit eingedunstet. Kurz vor dem Eintrocknen ließen wir das Deckglas mit der „Schichtseite“ nach unten auf das Fixierungsmittel fallen. Wohl ging bei dieser Methode viel Tiermaterial verloren, aber die Verwendung des in manchen Fällen etwas störenden Serums wurde vermieden.

Wir versuchten außer der Färbung auch die Dunkelfelduntersuchung, weil wir hofften durch die häufig bei Ciliaten auftretende Färbung des Macronucleus im Dunkelfeld gleichsam durch Vitalfärbung die Veränderungen des Ma bei der Teilung zu beobachten (vgl. auch PIEKARSKI, 1938). Dieser Versuch scheiterte aber — anscheinend wegen der Kleinheit des Objektes und der zahlreichen Zelleinschlüsse.

Cytologische Untersuchungen.

Die Kernverhältnisse der Gattung *Colpoda* sind bisher nur mangelhaft untersucht worden. In der Literatur finden sich nur vereinzelt Zeichnungen der Ruhekerne, die aber häufig sehr schematisch wiedergegeben sind. Untersuchungen über die Kernteilung von *Colpoda steini* hat WENYON 1926 in seinem Protozoenwerk veröffentlicht. Die dort gemachten Angaben beruhen aber offenbar auf einer unzureichenden Technik, denn genaue Einzelheiten über die Veränderungen der einzelnen Kernkomponenten konnte WENYON nicht feststellen, worauf weiter unten noch genauer eingegangen werden soll. Eine weitere cytologische Arbeit veröffentlichte PENN (1936/37), der die Kernteilung von *C. cucullus* beschrieb. Er arbeitete mit der FEULGENschen Nuclealreaktion und fand Kernverhältnisse, die von denen, die WENYON bei *C. steini* beobachtete, abwichen. Leider sind seine Angaben sehr unsicher und die Abbildungen so schematisch wiedergegeben, daß genaue Einzelheiten über den Kernteilungsablauf nicht erkennbar sind.

Einen wesentlichen Beitrag zur Kenntnis der Kernstruktur lieferte REICHENOW (1928) mit seinen Abbildungen der Kerne von *C. steini* und *C. cucullus*, in denen er zeigte, daß außer dem Kleinkern nur ein Teil des Ma, nämlich der Außenkern, eine positive Nuclealreaktion eingeht, während der Binnenkörper ungefärbt bleibt. Erst vor kurzem haben dann TAYLOR und FURGASON (1938), im Zusammenhang mit der Beschreibung der neuen Art *Colpoda duodenaria*, deren Ruhekerne beschrieben und gut abgebildet. Sie stimmen in ihrer Morphologie mit den Ruhekernen von *C. steini* überein. Zugleich findet sich in dieser Arbeit eine Übersicht über die bisher erschienenen *Colpoda*-Arbeiten, so daß wir auf eine Wiederholung verzichten können.

Die Micronucleusteilung.

Wie schon oben eingehender mitgeteilt, fand sich nur in dem aus einem Moosaufguß isolierten Stamm von *Colpoda steini* ein Micronucleus, dessen Teilungsbilder sich an Nuclealpräparaten mit außerordentlicher Klarheit erkennen ließen. Ganz allgemein ist festzustellen, daß der Kleinkern dem Großkern in der Regel bei der Teilung

vorangeht. Der Mi hat sich häufig schon geteilt, wenn sich am Ma die ersten Anzeichen der beginnenden Chromatinauflockerung zeigen. Der Mi zeigt zu Beginn der Teilung eine Auflockerung seiner Struktur, die an das typische Prophasestadium der Metazoenmitose erinnert (Taf. 6 Fig. 5 b). Man kann bei Verwendung eines Objektivs mit gutem Auflösungsvermögen eine knäuelartige Struktur sehen, in der wiederum kleine chromatische Elemente auftreten, die lebhaft an Chromomeren erinnern. Im weiteren Verlauf der Teilung kann man die Ausbildung von mindestens sechs Chromosomen erkennen, die auf einem bestimmten Stadium parallel zueinander liegen (Taf. 6 Fig. 5 c u. d). Weiterhin erfolgt die eigentliche Teilung derart, daß sich kurz nach ihr an jedem Teilprodukt immer zwei, häufig deutlich drei Chromosomen nachweisen lassen (Taf. 6 Fig. 5 f u. o). Diese verschmelzen schließlich, machen eine telophasische Umbildung durch und werden zum typischen Ruhekern (Taf. 6 Fig. 5 k u. l). Während dieses Teilungsgeschehens haben sich im Ma acht chromatische Körper gebildet, die nach beendigter Mi-Teilung zwei Vierergruppen bilden (s. weiter unten).

Anschließend an diese erste Teilung geht die zweite vor sich. Sie erfolgt in der gleichen Weise wie die erste. Nicht immer geht die Teilung der beiden Kleinkerne gleichzeitig vor sich. Ab und zu kann man Vermehrungscysten finden, in denen der eine Mi dem anderen in der Teilung vorausgeht. Die Teilung des Micronucleus ist keine typische Mitose unter Bildung einer Äquatorialplatte, sondern gehört zum sog. paramitotischen Kernteilungsmodus, bei dem eine scheinbare Querteilung der Chromosomen stattfindet (Bělař, 1926). Bei der Kleinheit der einzelnen Elemente lassen sich genaue Einzelheiten nicht beobachten. Wir gehen aber wohl nicht fehl in der Annahme, daß die Längsteilung der Chromosomen auf den früheren Prophasestadium schon vollständig durchgeführt wird und die Trennung der Spalthälften sich ohne Durchlaufen eines typischen Metaphasestadiums vollzieht.

Die Macronucleusteilung.

Der Großkern von *C. steini* zeigt je nach Art der Färbemethoden verschiedenes Aussehen. Er besteht im Ruhestadium aus zwei Komponenten, die sich in ihrem Chemismus wesentlich voneinander unterscheiden. Wie schon Reichenow mitteilte und auch Taylor und Furgason beobachteten, reagiert der äußere Teil auf die Nuclealreaktion positiv, während sich der zentrale, sog. Binnenkörper Feulgen-negativ (Taf. 6 Fig. 5 a) verhält. Diese Verschiedenheit der chemischen Zusammensetzung kommt auch bei Farbstoffen zum Ausdruck, die

eine reine „Chromatinfärbung" ergeben (Chromatin gleich Substanz, aus der die Chromosomen hervorgehen). Zu diesen gehört auch die Farblösung nach HANSEN (Taf. 5 Fig. 4a). Bei Anwendung der MANNschen Färbung tritt dagegen der Binnenkörper klar gefärbt hervor (Taf. 7 Fig. 7a u. 8). Deshalb wurde diese in Verbindung mit der Nuclealreaktion dann angewendet, wenn wir uns über die Veränderung des Binnenkörpers Aufschluß verschaffen und zugleich das Verhalten des chromatischen Kernanteils verfolgen wollten. Der Binnenkörper färbt sich bei Anwendung der MANNschen Färbung für gewöhnlich rotblau bis leuchtend rot; in den Nuclealpräparaten (MANN-Färbung nach Nuclealreaktion) dagegen nimmt er eine mehr blaue Färbung an, was wohl auf die voraufgegangene Hydrolyse im Verlauf der Nuclealreaktion zurückzuführen ist.

Im Folgenden soll zunächst das Verhalten der chromatischen, FEULGEN-positiven Komponente des Großkerns beim Teilungsablauf beschrieben werden. Die Teilung geht nur innerhalb der Vermehrungscyste vor sich. Niemals konnten wir bei unseren Stämmen Zweiteilung der freien vegetativen Formen beobachten. Vermehrungscysten pflegen nur Tiere zu bilden, die sich in gut ernährtem Zustand befinden und denen noch reichlich Bakterien zur Verfügung stehen. Diese relativ großen Individuen haben eine Länge von etwa 50 μ. Die ersten Anzeichen einer beginnenden Zell- bzw. Kernteilung bestehen in einer Abkugelung der ganzen Zelle auf dem Boden oder dem schräg abfallenden Rand der BOVERI-Schale. Unter ständiger Rotation findet die Encystierung statt. (Eingehende Beschreibung der Cystenbildung findet sich bei RHUMBLER, 1888.) Zu dieser Zeit zeigt der Kern noch keinerlei Veränderungen (Taf. 5 Fig. 4a; Taf. 6 Fig. 6a). Dann aber beginnt eine Auflockerung der beiden kappenförmigen chromatischen Kernanteile. Sie erscheinen zunächst homogen, nehmen dann granulierte Beschaffenheit an, um schließlich eine Radiärfaserstruktur zu bilden, die mit der HANSENschen Färbemethode am besten darzustellen ist (Taf. 5 Fig. 4b u. c; Taf. 6 Fig. 5f), besser als es in der Photographie zum Ausdruck kommt. In ihr kondensieren sich kleine chromatische Körper, die am Rand der Kernmembran besonders gut erkennbar sind. Sie nehmen, wohl durch Verschmelzung der kleinen Elemente, allmählich an Größe zu. Schließlich verschwinden die Radiärfasern, und es entstehen acht einzelne chromatische Körper, die innerhalb einer Membran liegen (Taf. 5 Fig. 4d; Taf. 6 Fig. 5h—k, 6g). Diese legen sich gruppenweise zu je vier zusammen. Wie die Abbildungen (Taf. 5 Fig. 4f, g; Taf. 6 Fig. 5l—n, 6k, l) zeigen, findet man auf diesem Stadium der Teilung

zwei Bläschen, die je vier nuclealpositive Körper enthalten. Im weiteren Kernteilungsablauf teilen sich diese beiden Gruppen wiederum gleichmäßig auf, so daß wir vier Gruppen zu je zwei Körpern erhalten — jede wiederum innerhalb einer Hülle — die zu den vier Ruhekernen je mit den beiden „Kappen" werden (Taf. 5 Fig. 4h u. i; Taf. 6 Fig. 5o—q, 6m—o). In manchen Cysten kann man Stadien finden, auf denen sich die beiden Feulgen-positiven Körper gegenseitig Ausläufer entgegen schicken, die schließlich zusammentreffen (Taf. 6 Fig. 6n).

Die ursprünglich (acht) einzelnen Körper haben eine ganz eigenartige Form. Sie sind nicht glatt konturiert, sondern etwa stechapfelförmig gezackt, was bei der Färbung nach Hansen besonders deutlich wird. Da sie nuclealpositiv sind und zahlenmäßig ganz gleichmäßig auf die neuen Kerne verteilt werden, erinnern sie in ihrem Verhalten an Chromosomen.

Das Verhalten des Binnenkörpers: Zur Darstellung des Binnenkörpers eignet sich, wie schon oben erwähnt, besonders das Farbgemisch nach Mann. Der Binnenkörper des Ruhekerns erscheint homogen (Taf. 7 Fig. 7a, 8). Während der Auflockerung (Taf. 7 Fig. 7b—d) des chromatischen Anteils zerfällt er in erst wenige große, später viele kleine Brocken, die anfangs auch noch homogen erscheinen, dann aber ganz feinkörnige Beschaffenheit annehmen (Taf. 7 Fig. 7e—g). Während anfangs noch eine klare Scheidung zwischen Binnenkörper und Außenkern besteht, geht diese im Laufe der Umwandlung in den feinkörnigen Zustand verloren. Schließlich entsteht eine kugelförmige Blase, in der die acht oben beschriebenen feulgenpositiven Elemente mit der Binnenkörpersubstanz gleichsam vermischt werden (Taf. 7 Fig. 7h). Diese beiden Komponenten teilen sich gemeinsam — scheinbar amitotisch — in zwei und weiterhin in vier Gruppen (Taf. 7 Fig. 7i—m), die vier neuen Großkerne. Dabei macht die Binnenkörpersubstanz eine ihrer Auflösung entsprechende, nur umgekehrt verlaufende Umwandlung durch (Taf. 7 Fig. 7m, n).

Besprechung der Befunde.

Der Teilungsmodus des Großkerns von *C. steini* läßt sich meines Wissens in die bisher bekannt gewordenen Teilungsschemata nicht einordnen. Es wird weder eine Äquatorialplatte gebildet, noch treten Stadien auf, die an die scheinbare Querteilung der Chromosomen, wie bei der Mi-Teilung erinnern, noch haben wir eine amitotische Teilung des Ma vor uns. Acht chromatische Elemente, von denen offenbar mindestens je vier gleiche genetische Zusammen-

setzung besitzen, werden aus dem Muttergroßkern differenziert. Je zwei von ihnen bilden einen neuen Kern.

Bis vor wenigen Jahren galt die amitotische Teilung für den Großkern als typisch. Dann wurde ein Fall bekannt, bei dem im Verlauf der Großkernteilung Chromosomen gebildet werden. IVANIĆ beschreibt von *Chilodon uncinatus* eine Teilungsform des Macronucleus, die er als Promitose bezeichnet, weil eine Lininteilungsspindel gebildet, sowie eine Äquatorialplatte aufgebaut wird und die sog. Polkörper der Teilungsspindel durch einen Durchschnürungsprozeß des Plastincaryosoms entstehen. In einer neuen Arbeit (IVANIĆ, 1938) geht er erneut auf die Teilungsform des Großkerns bei *Chilodon uncinatus* ein und stellt sich auf den von ihm auch schon in früheren Arbeiten vertretenen Standpunkt, daß die von ihm beschriebene Großkernteilung als der normale Teilungsmodus anzusehen ist, während die Amitose als pathologisch und die sich derart teilenden Kerne als pathologisch veränderte Degenerationskerne aufzufassen sind.

Die von IVANIĆ beschriebene Art der Großkernteilung von *Chilodon* weicht von der von uns beschriebenen völlig ab. PENN, dessen Arbeit wir schon oben erwähnten, fand bei *Colp. cucullus*, soweit man aus seinen Angaben schließen kann, ähnliche Verhältnisse bei der Großkernteilung wie wir. Er gibt an, daß ein Teil des „Chromatinmaterials des Ma sieben, manchmal acht chromatische Klumpen (clumps) bildet, die der Peripherie des Nucleus anliegen". Später verschwänden diese Klumpen. Der Ma werde granulär, vergrößere und verlängere sich und teile sich schließlich. Ein Teil des Chromatinmaterials der beiden Macronuclei werde wiederum in meist sieben chromatische Klumpen aufgeteilt. Diese verschwänden kurz danach, und die beiden Macronuclei würden erneut granulär, um sich schließlich noch einmal zu teilen. Einzelheiten von der Mi-Teilung werden nicht mitgeteilt. Diese Befunde decken sich zu einem Teil mit unseren Beobachtungen. Die Abweichungen mögen darauf zurückgehen, daß PENN eine andere Art untersucht hat, so daß ein unmittelbarer Vergleich seiner Befunde mit den unserigen nicht möglich ist. Sicher kann man aber aus seinen Angaben schließen, daß sich der Macronucleus von *Colpoda cucullus* weder einfach amitotisch teilt, noch eine typische Äquatorialplatte ausbildet.

Wenn WENYON bei seinen cytologischen Studien an *C. steini* Einzelheiten der Macronucleusteilung nicht feststellen konnte, dann lag dies an der von ihm benutzten — leider nicht angegebenen — Färbemethode. Er erhält dabei zwar eine Kernfärbung, aber nicht die Möglichkeit, die beiden Teile des Ma, den Binnenkörper und

den „Außenkern", getrennt während der Teilung zu verfolgen. Wie wir bei Anwendung der Mannschen Färbung beobachten konnten, werden die acht chromatischen Elemente des Ma von der Binnenkörpersubstanz gleichsam maskiert, so daß sie im Laufe der Teilung — abgesehen von ganz seltenen Fällen — nicht zu sehen sind (vgl. Taf. 7 Fig. 7 h).

Es wird nun im Folgenden versucht, die Bedeutung der bei der Kernteilung auftretenden Strukturen aufzudecken. Aus der Art der Verteilung des feulgenpositiven Kernanteils dürfen wir wohl annehmen, daß die acht Elemente Strukturen darstellen, die eine gleichmäßige Aufteilung der chromatischen Substanz der Mutterzelle auf die Tochterindividuen garantieren. So liegt es zunächst nahe, sie als Chromosomen anzusprechen, die auf eine Art entstehen, die von der bei der Mitose bekannten abweicht. Danach müßte die Zahl der auf jeden neuen Kern entfallenden Elemente gleich der diploiden Zahl der Chromosomen des Micronucleus sein, wenn wir annehmen, daß der Großkern, der aus dem diploiden Kleinkern entsteht, die gleiche Chromosomenzahl wie dieser besitzt. Aus der Mi-Teilung konnten wir entnehmen, daß mindestens drei Chromosomen (wahrscheinlich sogar vier) auf jeden der vier neuen Micronuclei entfallen. Daraus ergibt sich, daß die acht Körper allem Anschein nach mehr darstellen als einzelne Chromosomen und in ihnen vielleicht „Chromosomenaggregate" zu sehen sind.

Hinzu kommt meines Erachtens noch folgendes Moment: In den Ciliaten haben wir Organismen, die, wie schon erwähnt, diploide Kerne besitzen (im Verlauf der Konjugation werden haploide Chromosomensätze ausgetauscht). Auf Grund dieser Tatsache besteht die Möglichkeit, daß die acht chromatischen Körper acht gleichwertige, haploide Chromosomensätze darstellen, die je zwei wieder zum diploiden Ma werden. Dafür spricht auch in gewissem Grade die Beobachtung, daß die acht chromatischen Elemente anscheinend unter sich ganz gleiche Gestalt — soweit dies bei der geringen Größe überhaupt festzustellen ist — besitzen. Wir hätten dann bei dem Großkern von *Colpoda steini* einen Kernteilungsmodus, bei dem zwar auch eine gleichmäßige Verteilung der Kernsubstanz gewährleistet wird, aber die Ausbildung einzelner Chromosomen und die Bildung einer Äquatorialplatte unterbleibt. Leider besteht zunächst nicht die Möglichkeit, diesen hypothetischen Erklärungsversuch näher zu prüfen. Konjugationsstadien, die vielleicht weiteren Einblick in die Zusammenhänge zwischen den einzelnen Kernbestandteilen bringen würden, konnten wir nie beobachten.

Diese cytologischen Befunde am Macronucleus gelten in gleicher Weise für den normalen wie für den Mi-losen Stamm. Das Fehlen des Mi hat also auf das Verhalten des Ma keinen erkennbaren Einfluß.

Diese Art der Ma-Teilung stellt meines Wissens den zweiten Fall nicht-amitotischer Teilung eines Großkerns dar[1]). Während IVANIĆ bei den Vermehrungsruhestadien von *Chilodon uncinatus* eine sog. promitotische Kernteilung unter Bildung von Chromosomen und Äquatorialplatte beobachten konnte, wird bei *Colpoda steini* bestimmt keine Äquatorialplatte gebildet, während die Frage, wie weit Chromosomen differenziert werden, sich bisher nicht vollständig klären ließ. Sollte nun die Auffassung von IVANIĆ, nach der der promitotische Kernteilungsmodus als der normale und die Amitose als pathologisch anzusehen ist, zu Recht bestehen — und es sprechen manche Gründe für diese Deutung —, dann könnte man vielleicht den bei *Colpoda steini* beobachteten als Zwischenglied in dieser Entwicklungsreihe ansehen, ein Zwischenglied, bei dem zwar keine einzelnen Chromosomen unter Bildung eines typischen Pro- und Metaphasestadiums verteilt werden, bei der aber gleichsam ein Rest dieses Verteilungsmechanismus erhalten geblieben ist.

Zusammenfassung.

Die Vorgänge bei der Teilung des Großkerns von *Colpoda steini* werden eingehend beschrieben. Der Kleinkern teilt sich nach dem sog. paramitotischen Kernteilungsmodus, in dessen Verlauf eine scheinbare Querteilung der Chromosomen erfolgt. Offenbar werden aber die Chromosomen bereits im Stadium der Prophase längsgespalten und in den weiteren Teilungsschritten ohne Bildung einer Äquatorialplatte getrennt. Nach Ausbildung des Ruhekerns wiederholt sich dieser Vorgang, so daß schließlich vier neue Kleinkerne entstanden sind. Die Zahl der Chromosomen beträgt diploid mindestens drei, wahrscheinlich sogar vier.

Der Teilungsablauf des Macronucleus von *C. steini* weicht von den bisher bekannt gewordenen Teilungsarten des Macronucleus wesentlich ab. Er geht unter Bildung von acht chromatischen Elementen vor sich die je zwei zu den vier neuen Tochtergroßkernen

[1]) Eine nicht-amitotische Teilung wird noch von ROSSOLIMO und JAKIMOWITSCH (1929) beschrieben. Bei *Conchophtirus Steenstrupi* existieren 7 Macronuclei, die im Verlauf der Teilung spindelförmige Gestalt annehmen. Verff. konnten niemals Chromosomen sehen; ebensowenig äqnatoriale Ansammlung des Chromatins. Dennoch hatten sie den „allgemeinen Eindruck einer Mitose". Eine genaue Nachprüfung ebenfalls mit besserer Technik erscheint mir notwendig.

werden. Offenbar handelt es sich bei den acht chromatischen, feulgenpositiven Körpern um Chromosomenaggregate. Es wird vermutet, daß jeder der acht Körper den haploiden Chromosomensatz darstellt, die je zwei zum diploiden Großkern werden.

Der Binnenkörper, der zweite Bestandteil des Großkerns, verändert sich im Verlauf der Teilung derart, daß zunächst einige größere Brocken entstehen, die in viele kleine staubförmige Körnchen zerfallen. Diese durchsetzen den ganzen Großkern und maskieren gleichsam die chromatischen Kernanteile, wodurch bei bestimmter Färbung eine amitotische Kernteilung vorgetäuscht wird.

Die gleiche Art der Großkernteilung findet auch bei Abwesenheit des Kleinkerns statt.

Herrn Reg.-Rat Dr. v. Schuckmann möchte ich für freundliche Unterstützung bei der Durchführung der Arbeiten bestens danken.

Literaturverzeichnis.

Bělař, K. (1926): Formwechsel der Protistenkerne. Jena.

Bresslau, E. (1921): Die Gelatinierbarkeit des Protoplasmas als Grundlage eines Verfahrens zur Schnellanfertigung gefärbter Dauerpräparate von Infusorien. Arch. Protistenkde **43**.

Dawson, J. A. (1919): An experimental study of an amicronucleate Oxytricha. J. of exper. Zool. **29**.

Enriques, P. (1908): Sulla morfologia e sistematica del Genere Colpoda. Archives de Zool. **8**, 1.

Ivanić, Momčilo (1928): Über die mit den parthenogenetischen Reorganisationsprozessen des Kernapparates verbundenen Vermehrungscysten von Chilodon uncinatus Ehrbg. (Zugleich ein Beitrag zur Kenntnis der promitot. Kernteilg. b. Infusorien). Arch. Protistenkde **61**, 293.

— (1933): Neue Beiträge zur Kenntnis der mit den Reorganisationsprozessen der Kernapparate verbundenen Vermehrungsruhestadien von Chilodon uncinatus Ehrbg. nebst einem neuen Beitrage zur Kenntnis der promitotischen Teilung des Großkernes bei Infusorien. Ibid. **79**, 170—199.

— (1934a): Über die mit Encystierung verbundene Entstehung der großkernlosen Stämme bei Urostyla spec. und deren Bedeutung. Ibid. **83**, 334.

— (1934b); Über die Konjugation der kleinkernlosen Stadien mit den einen normalen Kernapparat besitzenden Tieren bei Amphileptus spec. Ibid. **83**, 344—351.

— (1938): Über die mit der Chromosomenbildung verbundenen promitotische Großkernteilung bei den Vermehrungsruhestadien von Chilodon uncinatus Ehrbg. Ibid. **91** (1), 61.

Kahl, A. (1935): Die freilebenden und ectocommensalen Infusorien, in: Dahl's Tierwelt Deutschlands. Jena.

Maupas, E. (1889): Le rajeunissement karyogamique chez les ciliés. Archives de Zool. **7**, 149—515.

Patten, M. W. (1921): The life — history of an amicronucleate race of Didinium nasutum. Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. **18**, 188.

Penn, Amos B. K. (1936/37): Reproduction in Colpoda cucullus. Arch. Protistenkde **88**, 366.

Piekarski, G. (1938): Die Gestalt des Macronukleus bei Stentor coeruleus. Zool. Anz. **120**, 115.

Reichenow, Ed. (1928): Ergebnisse mit der Nuclealfärbung bei Protozoen. Arch. Protistenkde **61**, 144.

Rhumbler, L. (1888): Die verschiedene Cystenbildung und die Entwicklungsgeschichte der holotrichen Infusoriengattung Colpoda. Z. Zool. **46**, 549—601.

Romeis (1932): Taschenbuch der mikroskopischen Technik. 13. Aufl.

Rossolimo, L. L. u. Jakimowitsch, K. (1929): Die Kernteilung von Conchophtirus Steenstrupi Zool. Anz. **84**, 323.

Schwartz, Victor (1935): Versuche über Regeneration und Kerndimorphismus bei Stentor coeruleus Ehrbg. Arch. Protistenkde **85**, 100—139.

Taylor, C. V. und Furgason, W. H.: Structural analysis of Colpoda duodenaria sp. nov. Arch. Protistenkde **90**, 320.

Wenyon, C. M. (1926): Protozoology, 2 Bände. New York.

Woodruff und Spencer: aus Bělař (1926), p. 194.

Tafelerklärung.

Tafel 5—7.

Tafel 5.

Fig. 1. *Colpoda steini* Maupas. Opalblaupräparat eines normalen Tieres.

Fig. 2. *Colpoda steini.* Kernverhältnisse des sog. Moosstammes (halbschematisch).

Fig. 3. Kulturschale (a) in Doppelschale (b).

Fig. 4. Teilungsablauf des Großkerns beim Mi-losen Stamm von *Colpoda steini.* Färbung: Eisentrioxyhämatëin nach Hansen. Mikrophotographien. Vergr. 810×. Aufsatzkamera Miflex.

Tafel 6.

Fig. 5. Teilungsstadien des Micro- und Macronucleus von *Colpoda steini* Maupas. Nuclealreaktion. Vergr. 1050×. In 4 g und m Plasmastruktur eingezeichnet. Erklärung siehe Text. Die Abbildungen zeigen die häufig sehr schwankende Größe der Vermehrungscysten.

Fig. 6. Teilungsablauf des Macronucleus beim Mi-losen Stamm von *Colpoda steini.* Nuclealreaktion. Vergr. 1050×. Gezeichnet in Höhe des Objekttisches. Erklärung siehe Text.

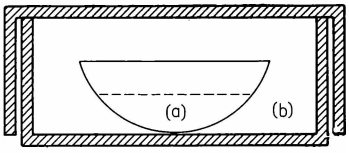
Tafel 7.

Fig. 7. Teilungsablauf des Macronucleus, nach Mann-Präparaten gezeichnet. (Mi-loser *Colpoda*-Stamm.) Die Farbtöne fallen häufig bei gleicher Färbung an den einzelnen Cysten verschieden aus. Vgl. 7 i und l.

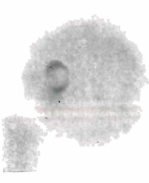
Fig. 8. *Colpoda steini.* Vegetative Form des Mi-losen Stammes. Färbung nach Mann.

1

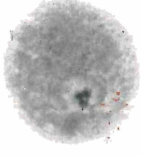
2



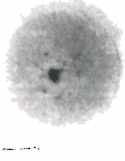
3



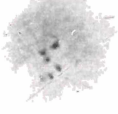
a



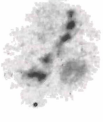
b



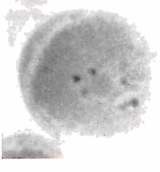
c



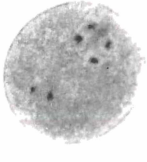
d



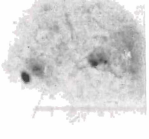
e



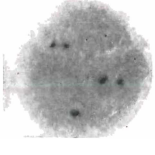
f



g



h



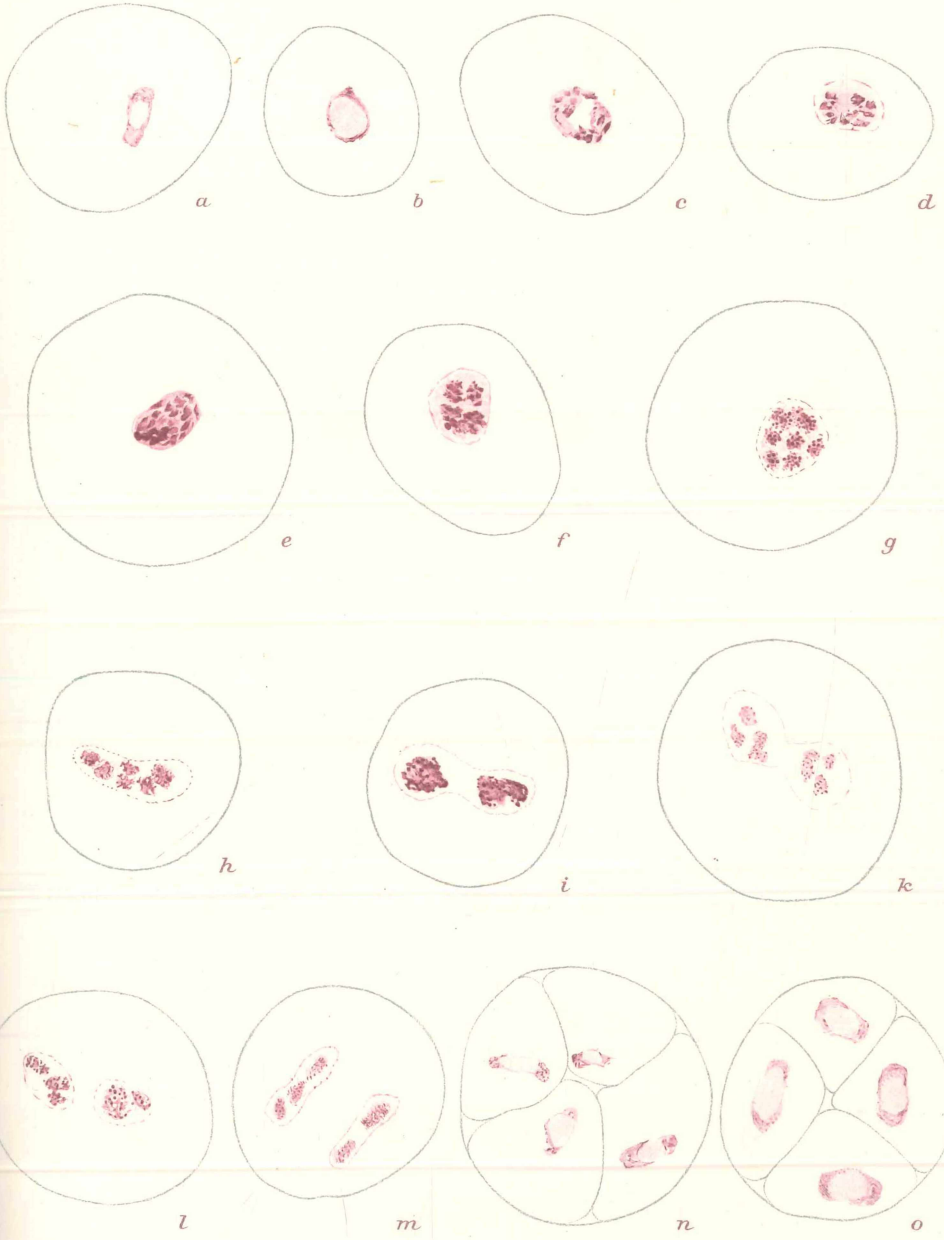
i

4

VERLAG VON GUSTAV FISCHER IN JENA

Verlag von Gust

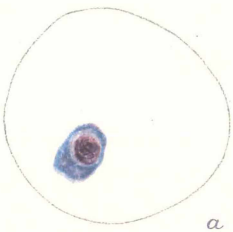
6



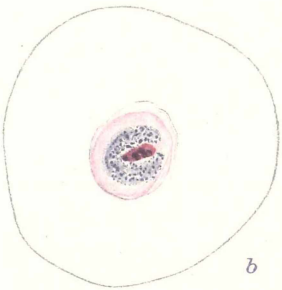
Fischer in Jena

Lith.Anst.v.E.A.funke,Leipzig.

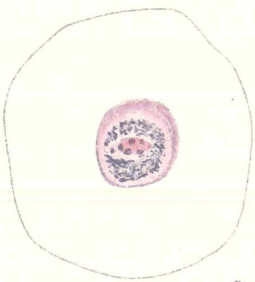
7



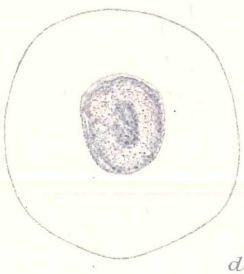
a



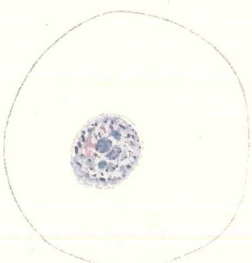
b



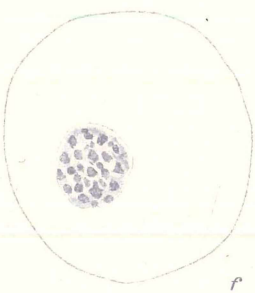
c



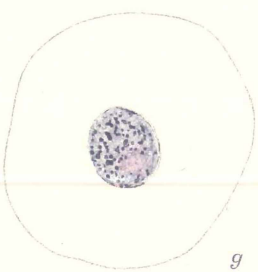
d



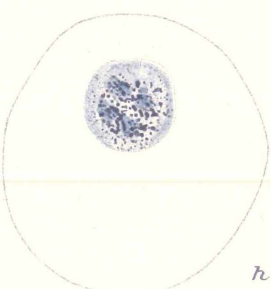
e



f

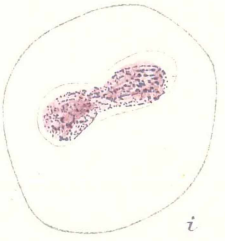


g

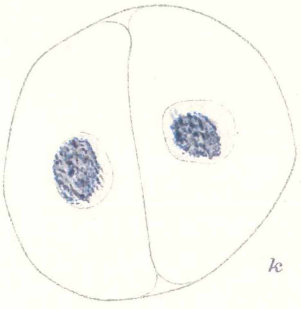


h

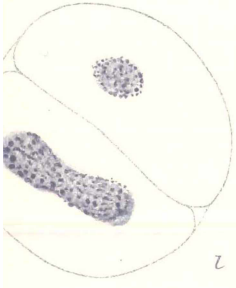
7



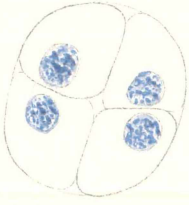
i



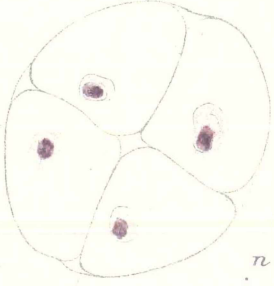
k



l



m



n

8

Lith. Anst. v. E. A. Funke, Leipzig.

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: Archiv für Protistenkunde

Jahr/Year: 1939

Band/Volume: 92_1939

Autor(en)/Author(s): Piekarski Gerhardt

Artikel/Article: Cytologische Untersuchungen an einem normalen und einem Micronucleus-losen Stamm von Colpoda steini Maupas. 117-130