

O ROZWOJU PŁCIOWYM GREGARYNY

Monocystis ascidiae R. Lank.

przez

M. SIEDLECKIEGO

z 2-ma tablicami.

Wniesiono na posiedzeniu dnia 4. grudnia 1899 r., referował czł. K. Kostanecki.

W jelitach osłonicy, zwanej *Ciona* (*Ascidia*) *intestinalis* żyje zwierzę pasorzytne jednokomórkowe, należące do rodziny *Gregarinidae*, a do rodzaju *Monocystis*. Zwierzę to opisał po raz pierwszy Ray Lankester i nazwał je *Monocystis ascidiae*; następnie Frenzel opisał je po raz drugi pod nazwą *Gregarina cionae*. Jeszcze późniejszy badacz Parona nadał temu samemu zwierzęciu nazwę *Urospora cionae*, a nareszcie Mingazzini zaliczył je do gatunku *Lankesteria ascidiae*. Ze względu na to, że opis podany przez pierwszego z cytowanych tutaj autorów zupełnie wystarcza do dobrego oznaczenia zwierzęcia, o którym mowa, zatrzymaliśmy też jego pierwotną nazwę *Monocystis ascidiae*.

W niniejszej pracy podam jeden tylko okres życia tego zwierzęcia, t. j. jego rozwój płciowy¹⁾. Badałem ten przedmiot w stacyi zoologicznej w Neapolu w ciągu miesięcy zimowych i letnich 1898. i 1899. roku; ukończyłem rzecz ostatecznie w Krakowie w Zakładzie Anatomii porównawczej. Kierownikom obu tych Zakładów, prof. A. Dohrnowi w Neapolu i prof. H. Hoyerowi w Krakowie składam serdeczne podziękowanie za ułatwienie mi studyów.

¹⁾ Streszczenie z powyższej pracy ukazało się w Biuletynie Akademii Umiejętności w Krakowie w numerze z grudnia 1899. r. Od tego czasu aż do ogłoszenia niniejszej rozprawy ukazało się kilka prac naukowych, potwierdzających moje badania. Rezultaty tych prac pomieszczyć tylko w dopiskach, o ile tego zajdzie potrzeba; samą pracę pozostawiam w pierwotnej redakcyi.

O materyale i metodach badania.

Zebranie materyału do badań nie jest trudne, gdyż prawie każdy okaz *Ciona intestinalis*, pochodzący z zatoki Neapolitańskiej, mieści w swym przewodzie mnóstwo gregaryn; zwłaszcza zaś młode okazy *Ciona*, dochodzące 1—3 cm. długości, są niemi zazwyczaj przepełnione. Najpiękniejszy materyał zebrałem z młodych okazów *Ciona*, które wychodowałem z jajek w basenach Stacji zoologicznej, w których umieszczałem dojrzałe okazy, mające mnóstwo pasorzytów w swem wnętrzu. Chcąc mieć do porównania zwierzęta bez pasorzytów, musiałem je wychowywać z jajek zapłodnionych, w osobnych naczyniach w wodzie, pochodzącej z miejsc, gdzie nie było zwierząt zarażonych. Ponieważ rozwój gregaryn, o które chodzi, odbywa się wewnątrz żywiciela tylko do pewnego stadyum, podczas którego pasorzyt, otoczony osłonką, zostaje wydalony z kałem do wody morskiej, więc dla zbadania dalszych stadyów, chowałem zakażone osłonice w szklanych naczyniach, w czystej wodzie i zbierałem wyrzucone z ich wnętrza pasorzyty, leżące z kałem żywiciela na dnie. Zebrane w ten sposób pasorzyty albo utrzymywałem od razu, albo też chowałem aż do zupełnego ich rozwoju w szkiełkach zegarkowych lub na szkiełkach podstawowych, umieszczonych w komorze wilgotnej. Do tych kultur na szkiełkach dodawałem zazwyczaj kawałek zielonego wodorostu *Ulva*, albo też okrzemek, dla zaopatrzenia ich w tlen. W komorach wilgotnych umieszczałem drobne kawałeczki tymolu; jego pary opóźniają tworzenie się pleśni wśród kultur, a rozwojowi gregaryn wcale nie szkodzą.

Dla badania świeżego, żywego materyału, rozskubywałem na szkiełku podstawowym kawałki jelit, wyjęte z żywych i nieodurzonych osłonice. Pasorzyty znajdujące się wśród treści jelita lub w dodanej kropli wody morskiej, przykryte szkiełkiem nakrywkowym, umieszczonem na nóżkach z wosku dla uniknięcia ucisku, żyły przez kilka lub kilkanaście godzin, zachowując kształt i ruchy zupełnie normalne.

Mogłem też wygodnie badać *Monocystis* we wnętrzu jelita maleńkich osłonice, długich co najwięcej na 5 mm., których ciało jest zupełnie przejrzyste. Tego rodzaju badanie ma tę korzyść, że zwierzęta znajdują się w naturalnych warunkach życia.

Preparaty ze zwierząt robiłem w dwojaki sposób, zależnie od tego, czy chciałem utrzymywać i barwić całe zwierzęta, czy też rozkładać je na skrawki. W pierwszym przypadku rozskubywałem szybko kawałki jelita zakażonej osłonicy na szkiełku przykrywkowym i wrzucałem szkiełko wraz z preparatem jeszcze świeżym i niewyschniętym do

płynu utrwalającego. Płyn ten natychmiast ścinał cały preparat, a cząstki utrwalonego jelita i wolno leżące pasorzyty, tak silnie przylegały do szkiełka, że mogłem je potem przynieść do alkoholu i barwika bez obawy, by pasorzyty nie odpadły. Otrzymywałem w ten sposób bardzo piękne preparaty zwierząt w całości zachowanych; mogły one jednak służyć tylko do kontroli skrawków, gdyż były zbyt grube do badania bardzo drobnych szczegółów budowy.

Skrawki sporządzałem z kawałków jelita zwierząt zakażonych. Kawałki te, lub całe małe zwierzęta, wyjęte jednak z płaszcza, utrwaląłem zazwyczaj w roztworze sublimatu zgęszczonego w wodzie morskiej, do którego dodawałem kilka kropel kwasu octowego; używałem też z dobrym skutkiem roztworu Flemminga, Hermanna, sublimatu zgęszczonego w wodzie destylowanej lub płynu Perennyiego. Później przeprowadzałem preparaty według znanych przepisów przez alkohole o różnym, coraz zwiększającym się zgęszczeniu aż do alkoholu absolutnego. Przez benzol lub chloroform doprowadzałem preparaty do miękkiej parafiny i zmieniawszy ją kilkakrotnie zatapiałem je w miękkiej (około 50° topliwej) parafinie. Od przeprowadzenia preparatów do benzolu lub chloroformu aż do ostatecznego zatopienia ich w parafinie, upływała najwyżej 1 godzina; długie nagrzewanie preparatów powodowało zawsze ich zmianę i występowanie w nich mnóstwa sztucznych produktów. Zwierzęta encystowane często już po półgodzinnym ogrzewaniu kurczyły się; te stadya zatapiałem też o wiele szybciej.

Z tak przyrządzonych preparatów robiłem kolejne skrawki grube na 3, 5 lub 10 μ i barwiłem je zapomocą hematoxyliny z żelazem, mieszaniny Ehrlicha-Biondiego, samej hematoxyliny lub innych barwników; preparaty z płynów, zawierających kwas chromowy, barwiłem najczęściej safraniną.

O gregarynach dojrzałych.

Za zwierzęta „dojrzałe“ uważam takie gregaryny, które, rozwinięszy się ze zarodników, urosły do znacznej wielkości, zużyły nagromadzone w swem wnętrzu materiały zapasowe i stały się zdolnymi do rozpoczęcia rozrodu płciowego. Te zwierzęta można z łatwością odróżnić od innych. Badając świeżo rozskubane jelito z Ciony bardzo zarażonej, na pierwszy rzut oka odbijają one od masy innych zwierząt swą jasną i przejrzystą plazmą, bez ziarenek zapasowych i szybszymi ruchami. Te jasne zwierzęta leżą wolno wśród treści jelita, a tylko

wyjątkowo przyczepiają się do jego ścian; na skrawkach przechodzących przez jelito można je jeszcze łatwiej rozpoznać po braku ziarenek wśród protoplazmy.

Dojrzała *Monocystis ascidiae* jest komórką podłużną, otoczoną dość silną osłonką; jej protoplazma dzieli się na dwie części niezbyt ściśle odgraniczone od siebie i mieści w swem wnętrzu duże jądro z wyraźnym zrębem chromatynowym i karyosomem¹⁾.

Monocystis ascidiae leżąca spokojnie jest z kształtu podobna do wydłużonego elipsoidu, którego przednia część jest rozdęta, a na szczycie wyciągnięta w ostrzejszy koniec; część tylna natomiast jest zaokrąglona (Ryc. 1.). Długość jej wynosi 100—130 μ m., a szerokość w miejscu najgrubszym wynosi $\frac{1}{3}$ lub $\frac{2}{5}$ długości.

Całe ciało jest otoczone cienką i jednolitą powłoką kutikularną, mającą maleńki otworek na szczycie przedniej części. Na żywych zwierzętach trudno dojrzeć tę przezrystą i bezbarwną powłokę; jej obecność można jednak łatwo stwierdzić zapomocą takich odczynników, które kureją protoplazmę zwierzęcia i sprawiają, że kutikula odstaje od reszty ciała. Na całym ciele gregariny ma kutikula tę samą grubość, a tylko na tylnym końcu jest nieco cieńsza; być może, że w tem miejscu jest też porowata, gdyż można czasem zauważyć jak z końca ciała gregariny wydziela się jakaś istota śluzowata; nie można jednak wprost widzieć tej porowatości.

Mały otworek, znajdujący się na samym końcu przedniej części ciała gregariny jest bardzo charakterystyczny. Jest on zupełnie kolisty a brzegi jego nieco zgrubiałe lecz ostre, barwią się silnie wielu barwnikami, zwłaszcza zaś hematoxyliną z żelazem; stąd też nieraz na preparatach wygląda ten otworek jak pierścień. Z tego otworaka wysuwa się zazwyczaj maleńka wypustka, pseudopodyum, plazmy zupełnie jasnej i wcale niemającej jakiegóś widocznej budowy. To pseudopodyum tkwi na podstawie z plazmy barwiącej się zarówno silnie zapomocą barwników zasadowych jako też kwaśnych i przechodzącej przez otwór w kutikuli jak zatyczka. Nigdy nie widziałem, aby gregaryna przyjmowała pokarm zapomocą tej wypustki; można natomiast często zauważyć, że gregaryna sunąca powoli naprzód wysuwa ją daleko, a skoro

¹⁾ Nazwy „Karyosom“ używam w podobnym znaczeniu jak Wilson (*The Cell in development and inheritance* New-York 1901); oznaczam nią tę część składową jądra, którą poprzednio wraz z Rhumblerem określałem wyrazem „Binnenkörper“. Wielu autorów uważało ten twór wśród komórki za zwykłe jąderko „Nucleolus“. Wobec tego jednak, że jego własności i zachowanie się niezupełnie odpowiadają własnościom jąderka znanego z komórek zwierząt wyższych, zdaje nam się, że lepiej dla niego zacho- wać obojętną nazwę „karyosom“.

tylko dotknie się nią jakiegoś stałego przedmiotu, to wciąga ją powoli. Być może zatem, że ta wypustka służy tylko do odbierania wrażeń dotykowych, podobnie jak wypustki opisane przez Grubera u *Amoeba tentaculata* lub przez Schaudinna u *Trichospherium Sieboldi*. Mechanizm wysuwania wypustki u *Monocystis ascidiae* jest bardzo prosty; przednia część zwierzęcia kurczy się, a z jej wnętrza, z oczek siatki, stanowiącej podstawę jej struktury, występuje jasna plazma przez otwór w kutikuli jako pseudopodjum. Skurez ciała gregaryny jest przytem nieraz tak silny, że mogą wskutek niego powstać fałdy lub zgięcia na jej powierzchni. (Ryc. 2).

Cała przednia część ciała *Monocystis ascidiae* ma bardzo charakterystyczną budowę. Wśród plazmy możemy w niej wyróżnić wyraźną siatkę utworzoną z grubych nitek; zarówno te nitki jak i oczka siatki plazmatycznej są ułożone promienisto wokół otworu w kutikuli. (Ryc. 1. i 2.). Bezpośrednio pod otworem znajduje się pasmo plazmy silniej światło łamiącej, którego górny koniec tkwi w otworze, służącym do wysuwania pseudopodjum. Pasma to idzie wzdłuż osi ciała gregaryny przez całą jej część przednią; jest ono, zarówno jak cała część przednia, utworzone z plazmy jaśniejszej niż reszta ciała. Takie ułożenie protoplazmy jest równie dobrze widoczne na zwierzętach, które wysunęły pseudopodium, jak i na tych, które je wciągnęły; w pierwszym jednak przypadku nitki plazmatyczne, ułożone promienisto, występują znacznie wyraźniej.

Niema ściślej granicy między przednią częścią plazmy gregaryny a dolnym odcinkiem jej ciała. Nitki plazmy ułożonej promienisto płaczą się na owych końcach i wprost łączą się z siatką plazmatyczną, tworzącą resztę ciała. Na żywych gregarynach, których plazma jest przekątną mnóstwem ziarenek, granica obu części zaznacza się dość silnie, gdyż ziarenka gromadzą się tylko w tylnym odcinku i nadają mu wejście pianki o nader subtelnej budowie; natomiast na preparatach, w których rozpuszczono wspomniane ziarenka, występuje bardzo wyraźnie siatkowata budowa plazmy i granica obu odcinków znika. Podobne fakty zauważył też Frenzel u gregaryn, pochodzących ze zwierząt, żyjących w Argentynie.

Zapomocą safraniny lub hematoxyliny z żelazem barwi się przedni odcinek ciała gregaryny silniej niż tylny; odwrotnie rzecz się ma po zastosowaniu barwienia hemałunem (według P. Mayera) lub thioniną. Pasma osiowe, stanowiące podstawę wypustki plazmatycznej barwi się, jak wspomniano, zapomocą wszelkich barwików bardzo silnie.

Jądro gregaryny *Monocystis ascidiae* leży zawsze w tylnym odcinku jej ciała; jest ono zazwyczaj kuliste, a jego średnica wynosi

z reguły nieco więcej niż $\frac{1}{3}$ przekroju zwierzęcia. Podczas ruchów gregaryny, kiedy jej ciało zwęża się nieraz do połowy, jądro ulega często spłaszczeniu lub wydłużeniu i przesuwa się po całym ciele. Błona jądra zda się na pierwszy rzut oka zupełnie zbitą; na przekrojach występuje często jako jednolita linia kolista, barwiąca się intensywnie barwikami zasadowymi. Dokładniejsze badanie wykazuje, że jest ona utkaną z mnóstwa splecionych nitek chromatyny, które tworzą zbitą pilśń i łączą się wprost z resztą zrębu chromatynowego. Nitki chromatynowe, które ten zrąb tworzą, są również złączone w sieć; jest ona pośrodku jądra dość zbita i widać w niej grubsze okruchy chromatyny; często tworzy się z nich zbita masa, otaczająca karyosom jak kaptur. Zrąb chromatynowy jest luźniejszy w bliskości błony jądrowej, często łączy się z nią zapomocą nielicznych tylko nitek.

Karyosom, odznaczający się zdolnością do bardzo silnego załamania światła, leży zazwyczaj na boku jądra. Składa on się z dwóch części: zewnętrzną tworzy warstwa zbita, jednorodna, okazująca tylko czasem nieliczne wakuole i mająca własność bardzo silnego barwienia się zapomocą barwików zasadowych, uwydatniających chromatynę; wewnątrz tej powłoki karyosomu wypełnia masa ziarnista, mniej zbita, przyjmująca z łatwością wszelkie barwiki kwaśne, używane do barwienia protoplazmy, jak eozynę, fuchsynę kwaśną itd.

Budowa karyosomu u *Monocystis ascidiae* przypomina zatem w zupełności budowę podobnych tworów, które opisano u *Coccidia*. Karyosom może czasem rozpaść się przez pączkowanie na kilka części, zazwyczaj nierównej wielkości; do każdej z nowych części przechodzą podczas pączkowania obie warstwy, składające ciało karyosomu.

W soku jądrowym, w którym są zanurzone wszystkie powyżej opisane części jądra, można przypuszczać obecność chromatyny rozpuszczonej, gdyż barwi on się, chociaż słabo, lecz wyraźnie zapomocą barwików zasadowych.

* * *

Dojrzałe *Monocystis ascidiae* mogą się bardzo żywo poruszać. Całe ich ciało może się wydłużać i zwężać, czasem przebiega przez nie, jak gdyby fala skurczu, zwężająca jedno jego części, a rozdymająca drugie. Ruch ten przypomina ruch robaczkowy lub metaboliczny ruch niektórych wymoczków orzęsionych lub wiciowców (Flagellata); może on jednak służyć tylko do niezgrabnego i powolnego przesuwania się po podłożu. Czasami natomiast widać jak *Monocystis* bez zmiany kształtu swego ciała ruchem równomiernym i spokojnym sunie szybko naprzód, jakby pchnięta jakąś niewidzialną siłą. Ruch trwa tylko chwilę, potem gregaryna leży bezwładna lub zaczyna swe meta-

boliczne skurcze. Dokładniejsze zbadanie tego sposobu ruchu wykazało fakt następujący: z tylnego końca ciała *Monocystis* wydziela się odrobina śluzu, która przyczepia się do podstawy, po której zwierzę pełza; następnie wydziela się naraz całe mnóstwo śluzu, który odsuwa gregarynę od miejsca uciepienia się; zwierzę sunie naprzód, odpychając się niejako od nitki śluzu wydzielanej przez siebie. Ruch postępowy *Monocystis* odbywa się więc podobnie, jak ruch innych gregaryn, opisanych przez Szewiakowa, lub ruch merozoitów u *Coccidium* lub *Adelea* (Schaudinn, Siedlecki).

Dojrzałe gregaryny rzadko tylko przyczepiają się do ściany jelita *Ciona intestinalis*¹⁾, zazwyczaj ruszają się one wolno wśród jelita; możliwość wykonywania ruchów ułatwia im zbliżenie się i rozpoczęcie objawów płciowych.

O objawach płciowych.

U osłonice, które mają w swem wnętrzu bardzo wiele pasorzytów można spotkać wśród jelita wolno leżące pary zwierząt w t. z. *Syzygia*, w których rozpoczynają się zmiany, charakteryzujące objawy płciowe. Nigdy nie widziałem, by pary takie były przyczepione do ścian jelita lub tkwiły wśród ich komórek; przeciwnie zawsze leżały one swobodnie wśród treści przewodu pokarmowego. Frenzel zauważył u niektórych gregaryn zachowanie się zupełnie odmienne; być może jednak, że jego dane polegają na mylnej obserwacji.

Choć wśród jelita jest wiele pasorzytów, to jednak stadyów rozrodu płciowego znajduje się u jednej osłonicy tylko kilka; wszystkie one są zazwyczaj mniej więcej na tym samym stopniu rozwoju. Robiłem próby, by wywołać objawy płciowe u większej ilości zwierząt; w tem celu umieszczałem zakażone osłonice w warunkach niekorzystnych dla ich życia, a więc w małych otwartych naczyniach, z których woda z łatwością parowała, a przez to zwiększała się w otoczeniu osłonice koncentracja soli, lub też wkładałem osłonice do wody wystającej, bez wodorostów, a więc zawierającej stosunkowo nie wiele tlenu; w innej seryi doświadczeń chowałem osłonice w wodzie czystej i zawierającej

¹⁾ Sposób, w jaki gregaryny przyczepiają się do ścian jelita osłonicy opisałem w osobnej pracy (Archives de l'Anat. microsc. 1901). Mojem zdaniem dojrzałe formy przyczepiają się tylko zapomocą wypustki plazmatycznej, wydawanej z przedniego końca ciała.

dość tlenu, lecz przefiltrowanej, a więc pozbawionej żyłatek, mogących służyć osłonikom za pokarm. Wszystkie te doświadczenia pozostały bez skutku; zazwyczaj osłonice umieszczone w niekorzystnych warunkach, wyrzucały z kałem wszystkie pasorzyty związane w syzygia, poczem już nie tworzyło się więcej syzygiów w ich wnętrzu. Rezultaty moich doświadczeń stoją zatem w sprzeczności z doświadczeniami Giarda, który otrzymywał liczne syzygia u gregaryn żyjących w osłonicach złożonych, skoro tylko kolonię takich osłonice poddał powolnemu wysychaniu.

* * *

Objawy płciowe rozpoczynają się złączeniem się dwóch dojrzałych osobników *Monocystis ascidiae* w parę (Syzygium). Dzieje się to w ten sposób, że dwie, równo wielkie i zupełnie jednakowo zbudowane gregaryny przysuwają się do siebie ukosem i stykają się przednimi częściami swych ciał tak, że ich osie długie tworzą kąt dość ostry. Z reguły oba zwierzęta są, jak wspomniałem, równej wielkości; dość często jednak różnią się nieco ich zdolności pochłaniania barwików, stąd też w parach związanych często jedno zwierzę barwi się nieco ciemniej niż drugie.

Złączone zwierzęta starają się teraz tak ułożyć, aby się ich przednie części ze sobą zetknęły jak najszerszą powierzchnią. Obracają się więc; kąt, jaki tworzą ich ciała, staje się coraz większy, a przednie części ich ciała wysuwają się i wydłużają w dzióbki, jakby szukając się wzajemnie. (Rycina 3.). Wreszcie stają wprost naprzeciw siebie tak, że osie ich ciał spadają w jedną linię. Teraz zaczynają się tak silnie do siebie przyciskać, że przednie ich części spłaszczają się zupełnie; równocześnie zaginają się ich tylne końce w dwie odwrotne strony. W tej chwili zaczyna złączona para zwierząt obracać się w miejscu około wspólnej osi, jak to opisali już Giard i Mingazzini. Ruch ten stąd pochodzi, że z zakrzywionych końców ciał obu gregaryn związanych w syzygium, wydziela się śluz bardzo obficie; gregaryny wirują z tych samych powodów mechanicznych, które pozwalają im na przesuwanie się naprzód po podłożu. Nitki wydzielonego śluzu tworzą oprzęd na powierzchni syzygium, pęcznieją i zlewają się w jedną masę; powstaje wskutek tego gruba warstwa śluzu, wśród której już odbywają się dalsze zmiany, jakiem ulega syzygium. Warstwa ta grubieje w miarę wirowania gregaryn; lecz kiedy powoli ich zakrzywione tylne końce zaczynają przylegać do przednich odcinków, a przez to spłaszczają się coraz bardziej, to i ruch syzygium słabnie, a warstwa śluzu przestaje rosnąć. Wreszcie zakrzywione końce zwierząt tak silnie przylgną do przednich spłaszczonych odcinków, że zaciera się granica pomiędzy nimi, a obie gregaryny nabierają wtedy kształtu półkul, stykających się sze-

roka powierzchnią. W tem stadyum, kiedy syzygium jest prawie kuliste, wydziela się na jego powierzchni pod warstwą śluzową cienka, lecz wyraźna i silnie światło łamiąca osłonka. Można powiedzieć, że począwszy od tego stadyum, gregaryny są otorbione (encystowane).

We wnętrzu cysty starają się obie gregaryny tak ułożyć, by się mogły zetknąć otworkami, służącymi do wydawania wypustki (Ryc. 4.). Przesuwają się więc tak długo, dopokąd te otworki nie staną naprzeciw siebie i nie zetkną się. (Ryc. 5.). Kutikula na obu zwierzętach pozostaje niezmieniona i stanowi ostrą granicę między nimi; otworek na przedniej części ich ciała jest więc jedynym punktem, w którym naga plazma obu indywiduów może się zetknąć. Z chwilą, kiedy to nastąpi, zaczyna się szereg bardzo ważnych zmian wśród ciał połączonych zwierząt. Od punktu ich zetknięcia się, wystrzelają wśród protoplazmy promienie ciemniej się barwiące. Cała siatkowata budowa plazmy zmienia swe ułożenie; oczka siatki wydłużają się i zwracają ku otworkom gregaryny. Na skrawkach, przechodzących przez punkt zetknięcia zwierząt, widać wybitne promieniowanie, występujące od tego punktu wśród ich plazmy, częstokroć tak wyraźne, że robi wrażenie podobne jak gwiazdy promieni występujące wokół centrosomów na biegunach wrzecionek karyokinetycznych. (Ryc. 5. i 6., która wyobraża cystę naciętą z boku). Charakter promieni jest tutaj bardzo wybitny; powstają one wskutek zmiany ułożenia się siatki plazmatycznej i nie przebiegają po liniach prostych, lecz są pozaginane falisto, często rozdwarzają się na końcach lub łączą z sobą bocznymi wypustkami. W najbliższym otoczeniu otworków w kutikuli ułożenie promieniste powstaje wskutek wyraźniejszego wystąpienia struktury, istniejącej tu już poprzednio, u zwierząt dojrzałych; promienie zaś wybiegające daleko w plazmę nie mają wejścia tworów stałych i odpornych, lecz raczej są podobne do dróg prądów dyfuzyjnych, któreby sobie można wyobrazić jako rozpościerające się po syzygium od miejsca zetknięcia się połączonych indywiduów.

Równocześnie ze zmianami wśród plazmy gregaryn odbywa się szereg przemian pośród ich jąder. Budowa tych części rozluźnia się, zrąb chromatynowy rozpada się na mnóstwo małych okruszyn, leżących luźno wśród soku jądrowego; błona jądra staje się znacznie cieńszą, prawdopodobnie wskutek tego, że cała chromatyna w niej zawarta, wydała się z niej i rozpada; karyosom wprawdzie się nie zmienia, lecz usuwa się na bok jądra bezpośrednio pod jego błonę; często gromadzi się jasna ciecz około niego. (Ryc. 4.). Wreszcie, pojawia się wśród jądra jasna wodniczka (vacuola) zwiększająca się coraz bardziej; do wnętrza tej wodniczki wchodzi przeważna część chromatyny i rozpada się

w niej na drobniuchny pył, czasem tak subtelny, że z trudnością można w nim ziarna rozróżnić. Wakuola rośnie coraz więcej i wypełnia wreszcie prawie całe jądro; kilka grubych kawałków chromatyny i karyosom odsuwa się wskutek tego na bok i leży tuż pod błoną jądra. (Ryc. 5.). W tem stadyum jądra w obu indywiduach mogą się czasem zupełnie zbliżyć do płaszczyzny granicznej, dzielącej syzygium, (Ryc. 4. i 5.); zazwyczaj dotykają przynajmniej jedną stroną tych snopów promieni, które wychodzą od punktu zetknięcia obu gregaryn; nigdy jednak nie przychodzi do bezpośredniego zetknięcia się obu jąder; zresztą przeszkadza temu płaszczyzna graniczna, utworzona z kutikuli zwierząt złączonych.

Zmiany wśród chromatyny posuwają się tak daleko, że wreszcie całe jądro wypełnia się cieczą, pochodzącą z rosnącej wodniczki; błona jego staje się teraz tak cienką, że wreszcie pęka, a treść jądra rozlewa się pośród plazmy obu indywiduów, w których te przemiany przebiegają prawie równocześnie. A teraz z resztek chromatyny nie wciągniętej do wakuoli tworzy się na gruzach starego nowe, małe jądro. Karyosomy i resztki rozpuszczonej chromatyny usuwają się na boki obu gregaryn i powoli ulegają tam zanikowi; można je dość długo jeszcze wysledzić wśród plazmy nawet w stadyach późniejszych. (Ryc. 7., 8., 9. i 12.). Nowopowstałe, małe jądro od razu zaczyna się dzielić; zaczyna się w niem karyokineza w chwili, kiedy jeszcze około niego znajdują się resztki dawnego jądra.

W stadyum gwiazdy macierzystej powstaje z małego jądra wrzecionko o silnie zarysowanych konturach; na jego równiku leżą chromosomy w postaci drobnych kuleczek; na biegunach widać centrosomy bardzo wyraźnie się barwiące. (Ryc. 7. i 8. — na obu rycinach ciążka biegunowe są nieco za duże; jest to efekt barwienia metodą Heidenhaina i za słabego zróżnicowania); od obu centrosomów rozpościerają się wśród plazmy wyraźne promienie. Po podziale chromosomów, ich połówki dążą ku obu biegunom i bardzo się do nich zbliżają; znać między nimi wyraźne wrzecionko środkowe, ciemno zabarwione. Karyokineza idzie zwykłym trybem dalej i prowadzi do utworzenia się dwóch małych jąder w każdej gregarynie. Nowe jądra nie spoczywają długo; przeciwnie natychmiast po ich utworzeniu zaczynają się w nich objawy nowego podziału; proces ten powtarza się bardzo wiele razy. (Ryc. 9. i 10.). Powstaje wskutek tego mnóstwo małych jąder, rozmieszczonych wśród plazmy i dzielących się coraz dalej. Im więcej jednak tych jąder powstaje, im mniejszą staje się ich masa, tem prostszym staje się też sposób ich podziału. W tym okresie rozwoju, który widzimy na ryc. 9. i 10., widać jeszcze około ciałek biegunowych słabe,

lecz wyraźne promieniowanie. Zazwyczaj trudno już wtedy odróżnić promienie jako twory występujące niezależnie od reszty plazmy, lecz znać doskonale ułożenie promieniste siatki plazmatycznej około biegunów wrzecionek. Kiedy jednak jądra staną się już bardzo drobne, wtedy i tego promieniowania dostrzedz już nie można, a mitozę przebiega w następujący sposób: W małym jądrze, znajdującym się w stadium spoczynku, można rozróżnić dość duże ziarno okrągłe, silnie się barwiące i przylegające zazwyczaj do błony jądrowej; z chwilą rozpoczęcia się podziału, ziarno to dzieli się na 2 równe części; jego połówki, późniejsze ciała biegunowe, również przyczepione do ściany jądra, rozsuwają się na dwie strony i zajmują przeciwległe końce jądra, które tymczasem wydłużyło się w elipsę (Ryc. 11. a i b); te ciała biegunowe nie opuszczają jednak nigdy błony jądra.

Chromatyna wśród małego, dzielącego się jądra jest z początku złożona z kilku nieregularnych kawałków, lecz powoli, w miarę rozsuwania się ciałek biegunowych, rozpada się na mniejsze części, które łączą się w nić i tworzą nieregularny kłębek (Ryc. 11. b). Kłębek ten rozpada się na chromosomy, które ustawiają się tak gęsto obok siebie, że zdają się zlewać w jedną całość. Jądro wydłuża się coraz bardziej w kierunku biegunów, na których tkwią ciała barwne; zbita chromatyna ustawia się w jego równiku — i tak dochodzimy do stadium gwiazdy macierzystej. Płyta równikowa dzieli się (Ryc. 11. c) — to stadium metakinezy; połówki jej odsuwają się od siebie ku dwóm końcom wrzecionka, utworzonego z wydłużonej błony jądra, (Ryc. 11. d), która wcale nie znika i nie staje się nawet cieńsza — to stadium odpowiadające gwiazdom potomnym; środek wrzecionka jądrowego przewęża się i wydłuża, aż wreszcie otrzymujemy dwa pęcherzyki połączone cienkim pasemkiem, odpowiadające kłębkom potomnym, połączonym za pomocą resztek wrzecionka środkowego (Ryc. 11. e); na pasmie łączącym widać szereg ziarenek — być może, że są to twory analogiczne do ciała międzykomórkowego; pasmo łączące przerywa się wreszcie i mamy dwa nowe jądra, w każdym z nich połówkę chromatyny jądra macierzystego i jedno ciało biegunowe¹⁾.

¹⁾ Że pośród ciała złączonych gregaryn tworzy się mnóstwo jąder małych, to było rzeczą znaną oddawna. Cuenot, w dawniejszych pracach Roboz, Wolters, Henneguy i inni autorowie podali nawet opisy i rysunki podobne nieco do ryc. 11. a do e. Rolę i charakter powstających na błonie jądrowej ciałek biegunowych spostrzegł prawie równocześnie ze mną Mrázek, którego praca ukazała się w kilka miesięcy po ogłoszeniu streszczenia niniejszej rozprawy. W zupełności potwierdza badania nasze Cuenot w swej najnowszej rozprawie; jego rycina 55. a-f odpowiada w zupełności naszej ryc. 11.

Zdaje mi się, że różnicę, zachodzącą między tym sposobem podziału, który występuje, gdy jąder jeszcze jest niewiele, a tym, który charakteryzuje późniejsze podziały, można sobie dość łatwo wytłómaczyć; mianowicie: bezpośrednio po utworzeniu się nowego jądra związek między niem a protoplazmą jest dość ścisły, natomiast w miarę rozrodu jąder, nowo powstające oddzielają się coraz bardziej od plazmy otaczającej, a centrosomy zamknięte wśród ich błony nie mają możności ścisłego złączenia się z plazmą komórki i wskutek tego nie mogą służyć za punkty przyczepienia dla promieni. Jądro odcina się niejako od plazmy, a podział przebiega wśród niego, w obrębie jego błony. Podobne fakty odcięcia się jąder od plazmy nawet w stadyach podziału obserwowano dość często zarówno u zwierząt (Mrázek, Hoyer jun., R. Hertwig, Szewiakow), jak i roślin (Swingle, Harper); u gregaryn występuje ten fakt może nieco wybitniej, niż u innych komórek.

Równocześnie ze zmianami wśród jądra kopulujących gregaryn zmienia się też ich ułożenie. Jak wiemy (Ryc. 3.—5.) w pierwszych chwilach zespolenia się oba zwierzęta stykały się równą płaszczyzną. Teraz, w miarę zmian w jądrach, jedna z gregaryn zaczyna wsuwać przedni koniec swego ciała w ciało drugiej. Ta część jednej gregaryny, w której najlepiej znać promieniowanie i pas jasnej plazmy, służący za podstawę wysuwającego się pseudodyum, tworzy teraz palczasty wyrostek, wciskający się prostopadle i w kierunku dawnej osi ciała w ciało drugiego zwierzęcia.

Pod jego naciskiem ustępuje plazma drugiego indywiduum i tworzy się w niej zagłębienie zupełnie odpowiadające swym kształtem wcisniętemu wyrostkowi. Do dna tego zagłębienia dochodzą promienie plazmatyczne z ciała drugiego zwierzęcia. (Ryc. 9. i 10.). I szczyt wyrostka jednego zwierzęcia i dno zagłębienia w drugim barwią się bardzo silnie zapomocą wszelkich barwików.

Przez takie ułożenie swych górnych części stykają się oba zwierzęta bardzo ściśle ze sobą, jednakowoż mimo tak ścisłego zetknięcia się nigdy niema między niemi wymiany jąder, nawet w tem stadyum, kiedy duże jądro rozpada się, a na jego miejscu powstaje mnóstwo małych. Nie można też zauważyć wymiany części jąder, lub nawet przechodzenia kawałków chromatyny z jednej komórki do drugiej, a jedynym skutkiem zetknięcia się, jest silne promieniowanie, okalające i podstawę zagłębienia i szczyt wyrostka plazmatycznego wewnątrz syzygium.

Ale i ten ścisły związek obu zwierząt niebawem się rozrywa, gdyż pomiędzy szczytem wyrostka plazmatycznego, a dnem zagłębienia

nia, w które on wchodzi, tworzy się przestrzeń wypełniona jasną plazmą, bez struktury. Ponieważ do tego miejsca dotykają otwory obu zwierząt, służące im do wydawania wypustek plazmatycznych, więc można przypuszczać, że jasna plazma, która teraz rozgranicza oba zwierzęta, pochodzi z ich wnętrza i została z nich wyciśniętą; dzieje się to zapewne w ten sam sposób i jak podczas wysuwania się pseudopodyum.

Mimo tego, że komunikacja między obu zwierzętami w syzygium została przerwana, wpuklanie się wypustki jednego zwierzęcia w drugie nie ustaje, przeciwnie coraz głębiej tonie tępy koniec jednej gregaryny w ciele drugiej tak, że dochodzi nieraz prawie do przeciwległej ściany. Jądra rozsiane licznie w plazmie syzygium, grupują się z początku przy powierzchni obu indywidualów, później zapełniają równomiernie całą plazmę. Budowa promienista około otworów pseudopodialnych zaczyna powoli zanikać w ślad za przerwaniem związku między połączonymi zwierzętami; nitki plazmatyczne płączą się około końca wsuwającego się wyrostka i zaczynają zmieniać się na szeregi ziarek silniej się barwiących; niebawem też około obu otworów powstaje gęsta ziarnista masa, w której rozróżnić można jeszcze ślad pręta plazmatycznego, służącego dawniej za podstawę pseudopodyum.

Wypustka jednego zwierzęcia wsuwa się coraz głębiej w drugie, jej ściany zaczynają się giąć i garbić, z jej podstawy zaczynają wysuwać się wypustki drugorzędne, które się zanurzają w boki drugiego indywiduum. Lecz i to z swej strony zaczyna wysuwać palczaste przedłużenia drażące ciało pierwszego zwierzęcia i powoli tworzy się z nich obu gęsty splot pasów i wyrostków plazmatycznych. Początkowo wszystkie te powikłane wyrostki są okryte kutikulą, wnet jednak zaczyna ona znikać; lecz mimo to przeplecione nawzajem indywidua nie zespala się nigdy i choć z trudnością, zawsze można wysledzić między nimi pogięte i pofałdowane linie graniczne.

Teraz plazma obu tak zmienionych osobników bardzo się zbija tak, że nie można już w niej widzieć typowej siatki, lecz wydaje się być ziarnistą. Na powierzchni wstęg plazmatycznych osadzają się jądra, ułożone gęsto lecz w jednej warstwie. Dziela się one jeszcze raz i zaczynają przysuwać się tak blisko do powierzchni plazmy, że tworzą na niej małe wypuklinki, z których każda odpowiada jednemu jądro. (Ryc. 14.). W tej chwili każde jądro otacza się małą częścią bardzo jasnej plazmy i oddziela się z nią od wspólnej masy; tworzą się przez to małe kuliste komórki. Ze względu na to, że jest mnóstwo, więc rozbiegają między siebie całą plazmę tak, że jako reszta pozostaje czasami

mała tylko odrobina masy ziarnistej, która się niebawem rozpada i ginie wśród nowo powstałych ciałek.

Wnętrze cysty jest więc teraz wypełnione małymi kulkami (Ryc. 15.), których przekrój wynosi od 2. 5. do 3. μ . Ich plazma jest jasna i zbita, a zawiera nieliczne ziarnka, widoczne najlepiej na żywych okazach; w ich środku leży jądro. Na żywych okazach widać je jako jasne pole wśród plazmy, po zabarwieniu wygląda jak pęcherzyk, na którego ścianach jest umieszczonych kilka ziarn chromatynowych (zazwyczaj cztery), (Ryc. 15. i 16.). Te jasne, kuliste ciała, są to tak zwane „Sporoblasty“, znane już dawniej kilku autorom. Ich powstawanie we wnętrzu cysty odbywa się nagle i prawie równocześnie w obu zespolonych indywiduach.

Na utworzeniu się sporoblastów kończy się pierwszy okres rozwoju płciowego u *Monocystis ascidiae*; można jego przebieg po krótko tak streścić: dwie dojrzałe gregaryny zbliżają się do siebie i stykają swą plazmą, tworzą potem wspólną osłonę i wśród niej wymieniają podniecie widoczną jako prądy rozchodzące się od punktu zetknięcia; pod jej wpływem rozpadają się stare jądra zwierząt złączonych, a na ich miejscu tworzą się nowe, znacznie mniejsze; częsty podział tych małych jąder i rozpad plazmy prowadzą do utworzenia się mnóstwa sporoblastów. W tym jednak okresie niema wcale wymiany części chromatynowych między zwierzętami połączonymi.

Po utworzeniu się sporoblastów nastaje we wnętrzu cysty pozorne stadyum spoczynku, a mnóstwo tych jasnych kulek leży bez ruchu obok siebie. We wnętrzu jelita u *Ciona intestinalis* mogą cysty, które doszły do tego stadyum, pozostać długi czas bez zmiany; zazwyczaj jednak w tym okresie rozwoju zostają wyrzucone z przewodu pokarmowego i można je odszukać w wydalonych masach kału. Wydalona z jelita cysta pełna sporoblastów, leży wśród wody morskiej tylko przez krótki czas w spoczynku. Po upływie 5 do 8 godzin od chwili wydalenia zaczynają się w takiej cyście dziwne zmiany. Mianowicie sporoblasty, które ją wypełniają, zaczynają powoli drgać; w całej cyście widnieje jakiś niepokój: każde małe, okrągłe ciało zaczyna się wahać na miejscu, skręcając się przytem trochę, raz w prawo to znów w lewo. Ruchy te, z początku bardzo słabe, stają się coraz szybsze; po chwili sporoblasty drgają już bardzo szybko, uderzając o siebie nawzajem, a równocześnie ich ruch drgający zaczyna przechodzić w postępowy. Małe te kulki kręcąc się i tocząc dość szybko zaczynają od wnętrza

cysty dążyć ku jej powierzchni, a równocześnie te, które leżały w warstwie zewnętrznej, cofają się ku środkowi, by znów po chwili zwrócić się ku powierzchni. Powstaje wśród cysty jak gdyby kłębiecie się i wrzenie i ciągle prąd małych kulek dąży od środka ku powierzchni; to też obserwując taką cystę od góry, widzi się wciąż nowe sporoblasty wynurzające się na powierzchnię, to znów po chwili zapadające wgłąb, by ustąpić miejsca innym. Taki ruch trwa dość długo wewnątrz cysty i staje się coraz silniejszy; sporoblasty wirują i toczą się obok siebie i wykonywają zwroty nader podobne do ruchów małych pierwotniaków z grupy Flagellata (Wiciowców). Nie można jednak, mimo najtroskliwszej obserwacji dojrzeć wypustek lub rzęsek, któreby ich ruch powodować mogły. Także i na preparatach barwionych i skrawkach przez cysty znajdujące się w tem stadium nie udało się nigdy wysledzić organów ruchu; tak więc jego przyczyna musi na razie być niewytłomaczona.

Ruch taki dostrzegłem po raz pierwszy wśród cyst, które zostały wydalone z jelita u *Ciona intestinalis* około godz 9. wieczorem. Rozpoczął się on około godziny 2. po północy i trwał przeszło 2. godziny. Wogóle, nigdy wśród dnia tego ruchu nie widziałem, lecz zawsze tylko nad ranem między 2. a 4. godziną.

Mniej więcej w 2. do 2½ godzin po rozpoczęciu się tego ruchu, zaczyna się wśród wirujących sporoblastów objaw zupełnie nowy. Po dwa z nich zbliżają się do siebie, stykają jednym punktem swego ciała i połączone w parę, dalej wirują. Ich ruch jest jednak słabszy niż poprzednio. Takich par sporoblastów zaczyna się w cyście pojawiać coraz więcej, a z ruchu, jaki w niej widać, możnaby wnosić, że pojedyncze sporoblasty doszukują się nawzajem. Wreszcie cała cysta wypełnia się samymi połączonymi sporoblastami; czasami tylko można dostrzedz zaledwie kilka lub kilkanaście takich, które się nie złączyły w pary; zazwyczaj zbijają się one w jedną masę, niebawem giną, rozpadając się na ziarenka. Resztę tej masy można łatwo rozpoznać jeszcze w późniejszych stadyach.

Z tem łączeniem się sporoblastów w pary zaczyna się nowy okres w rozrodzie płciowym gregaryn; mamy tu bowiem rzeczywistą kopulacją izogamiczną sporoblastów.

Dwa złączone sporoblasty, z początku kuliste zaczynają się spłaszczać (Ryc. 16. i 17.) i stykają się coraz to szerszą powierzchnią swego ciała; wreszcie zlewają się zupełnie i tworzą jedno ciało eliptyczne, które bardzo rychło się zaokrągla. W miarę zlewania się sporoblastów ich ruch staje się coraz wolniejszy, wreszcie ustaje. Cała cysta wypełnia się powoli dużemi, nieruchomemi kulami.

Za złączeniem się plazmy idzie też zespolenie się jąder obu kopolujących sporoblastów. Na żywych okazach znać jądro jako jaśniejsze półko wśród ziarnistej, światłej plazmy. Z chwilą połączenia się, jądra obu kopolantów zbliżają się i łączą, tworząc z początku wydłużoną, potem okrągłą jasną plamę wśród nowo powstałych, większych osobników (Ryc. 16.). Na preparatach zbliżanie się jąder jest jeszcze wyraźniejsze; łączą się one w jeden pęcherzyk, w którym z początku leży chromatyna rozdzielona na dwie części, potem jednak rozmieszcza się, jak zazwyczaj, równomiernie po całym jądrze. (Ryc. 17., 18. i 20.).

Z tą chwilą, kiedy już i plazma i jądra połączonych sporoblastów zespoliły się zupełnie, kończą się też objawy płciowe u *Monocystis ascidiae*. Nie kończy się na tem jednak jej rozwój, gdyż z zespolonych sporoblastów zaczynają się teraz tworzyć zarodniki, sporozoitę. Zanim jednak przejdziemy do opisu tych stadyów, musimy pokrótce zastanowić się nad danymi z literatury dotyczące się objawów powyżej opisanych.

* * *

Tworzenie się sporoblastów po encystacyi dwóch złączonych gregaryn było już dawno znane. Już Lieberkühn, Adolf Schmidt, Van Beneden i inni dawniejsi badacze podają opisy i rysunki syzygiów i cyst wypełnionych sporoblastami, lecz bez objaśnienia ich i należytego zrozumienia. Z nowszych badaczy: Bütsehli, A. Schneider, Roboz, Wolters, Henneguy, Bossanquet, Léger, Mesnil, Caullery, Cuénot, Cecconi i Mrázek podają, jak już powyżej wspomniano, cały szereg szczegółów, odnoszących się do pojedynczych stadyów rozwoju gregaryn wśród cysty. I tak prawie wszyscy autorowie zgodnie opisują powstawanie sporoblastów jako wyobnienie się pół plazmy około małych, nowo powstałych jąder. Roboz, Wolters, Henneguy, Cuénot i inni stwierdzają przytem istnienie podziałów karyokinetycznych. Tylko Mesnil i Caullery podają, że podczas rozwoju sporoblastów w syzygiach gregaryny zwanej *Selenidium*, jądra mające przejść do sporoblastów, tworzą się przez podział wielokrotny (*division multiple*) z dużych jąder złączonych, dojrzałych osobników.

Wszyscy autorowie stwierdzają też ten fakt, że obie złączone w syzygium gregaryny są aż do utworzenia się sporoblastów ściśle oddzielone. Tylko Wolters twierdzi, że u *Monocystis*, żyjącej w jądrach dżdżownicy znika granica między zwierzętami w syzygium, a duże jądra obu indywiduów najpierw wydzielają ciała kierunkowe, potem zaś zespalają się w jedno. To zespolone jądro dzieli się znów na dwa, a każde z nowo powstałych przechodzi do jednego z indywiduów połączonych, by w jego wnętrzu, przez powtarzający się kilkakrotnie po-

dział, dać początek jądom sporoblastów. Jednakowoż rysunki i opisy Woltersa świadczą o tem, że preparaty, jakimi się posługiwał, były tak zmienione pod wpływem odczynników, iż na podstawie ich zbadania Wolters popełnić musiał cały szereg omyłek. Cuénot tak samo się zapatruje na pracę Woltersa. Najwięcej danych tyczących się rozwoju gregaryn z rodzaju *Monocystis* i *Diplocystis* znajdujemy w dwóch krótkich pracach Cuénot'a. Autor ten dowodnie stwierdza, że podczas konjugacji gregaryn złączonych w syzygium niema ani zospolenia się ani wymiany części chromatynowych; natomiast konstatuje, że w obu, zupełnie oddzielonych indywiduach jądra się rozpadają, ich część zostaje wydzieloną, a z reszty powstają nowe, małe jądra, które przez karyokinezę dają początek jądom sporoblastów. Cuénot sądzi, że zbliżenie się dwóch gregaryn i następowe zmiany ich struktury, występujące pomimo zupełnego ich oddzielenia są objawem bardzo pierwotnej formy zapłodnienia lub też „pierwszym etapem w filogenetycznym rozwoju objawów zapłodnienia“, podobnie jak to utrzymywał Rhumbler na podstawie badań przeprowadzonych na amebach¹⁾.

Kopulacji i łączenia się sporoblastów nie dostrzegł dotychczas żaden z autorów. Tylko w pracach A. Schneider'a, o *Stylorhynchus oblongatus* i Legera o *Stylorhynchus* i *Ceratospora mirabilis* znajdujemy opisy ruchu sporoblastów; autorowie nadają temu ruchowi nazwę tańca *danse des sporoblastes*, lecz nie podają jego znaczenia. Być może, że dalsze badania wykażą u tych form, które przechodzą przez stadium ruchliwych sporoblastów, także i objawy płciowe²⁾.

*

*

*

Rozwój płciowy *Monocystis ascidiae* odbywa się w dwóch fazach. Pierwszą z nich jest zbliżenie się dwóch dorosłych niezróżniczkowanych gregaryn, encystacja i wzajemne podrażnienie się, objawiające się jako prądy dyfuzyjne, powstające wśród plazmy; następstwem tego jest utworzenie się sporoblastów. Drugą fazą jest kopulacja sporoblastów; jej następstwem jest utworzenie się komórek większych, zdolnych do wydania całego pokolenia sporozoitów. W pierwszej fazie więc są

¹⁾ W ostatniej swej pracy, Cuénot porzucił swą teorią, gdyż udało mu się stwierdzić u dwóch rodzajów gregaryn istnienie objawów zupełnie podobnych do tych, które obserwowaliśmy u *Monocystis ascidiae*.

²⁾ Przypuszczenie nasze zostało obecnie potwierdzone w pracach L. Léger (C. R. Ac. Sc. 1902, Paris), który u *Stylorhynchus* stwierdził kopulację sporoblastów tworzących się wśród cyst. Kopulacja poprzedza u tego zwierzęcia taniec sporoblastów.

komórki wprawdzie niezróżniczkowane, lecz mające możność oddziaływania na siebie i wytworzenia właściwych komórek płciowych; w drugiej grają już rolę tylko komórki płciowe.

Jak już powyżej zaznaczono prawie zawsze obie gregaryny rozpoczynające cykl rozwoju płciowego są równej wielkości; ich plazma jest zazwyczaj zupełnie jednakowa, a tylko czasami jedno indywiduum barwi się silniej niż drugie. Musi więc istnieć jakaś pobudka, być może, że działająca chemotaktycznie, a zbliżająca oba indywidua ku sobie i powodująca ich połączenie się; istnienie jakiegoś doboru płciowego nie da się tutaj udowodnić. Bez przyjęcia jednak pobudki zbliżającej do siebie dorosłe gregaryny nie możnaby zrozumieć w jaki sposób dwa z reguły doskonale dobrane indywidua mogą się odnaleźć wśród mnóstwa innych.

Z chwilą zbliżenia się i encystacyi wzmagą się wpływ wzajemny obu osobników. Jak widzieliśmy powyżej, ustawiają one jedyne nieosłonięte kutikulą punkty ciał swoich naprzeciw siebie i przez chwilę stykają się wprost nagą plazmą. Powstają prądy w obu indywiduach i pod ich wpływem przychodzi w końcu do utworzenia właściwych komórek płciowych, sporoblastów. Znow więc jakaś podnieta, zapewne chemiczna, wychodząca od obu indywiduów, działa na nie i powoduje ich przemianę w komórki dojrzałe płciowo. U *Monocystis ascidiae* są więc objawy podobne do tych, które już dawniej opisaliśmy u *Adelea ovata*. U tego zwierzęcia istnieją dwa rodzaje komórek, które grają rolę w cyklu rozwoju płciowego, są to makrogamety i mikrogametocyty. Oba rodzaje tych komórek, jakkolwiek różnej wielkości i kształtu, są zdolne do samodzielnego życia, tak jedne, jak i drugie mogą, drogą rozrodu bezpłciowego, wydać całe generacje komórek do siebie podobnych. Przychodzi jednak chwila, w której dwie komórki łączą się z sobą i wtedy rozpoczyna się cykl rozwoju płciowego: jedna z nich — makrogamet — dojrzeje, jej jądro ulega redukcji, cała więc zmienia się na jedną komórkę płciową; druga — mikrogametocyt — wytwarza z siebie cztery właściwe komórki płciowe, mikrogamety. Po utworzeniu się tych elementów dopiero następuje kopulacja: jeden mikrogamet zespała się z makrogametem. I u *Adelea* i u *Monocystis* istnieje widoczna chemotaxis komórek niezróżniczkowanych; widzimy też, że w obu przypadkach dopiero ich zetknięcie się decyduje o utworzeniu się właściwych komórek płciowych.

Przykładów oddziaływania na siebie komórek niezróżniczkowanych, prowadzącego do utworzenia się komórek płciowych da się znaleźć dość wiele wśród państwa zwierząt, zwłaszcza jednokomórkowych. Tak n. p. u *Actinophrys sol* lub u *Actinosphaerium Eichhorni* (R. Her-

twig, Brauer) dopiero po ścisłym zetknięciu się dwóch, niezróżniczkowanych zwierząt następują w nich objawy redukcji, zwierzęta dojrzewają płciowo i mogą rozpocząć kopulacyę; u wymoczków (Maupas, R. Hertwig, Hoyer jun. i inni), dopiero po zetknięciu się dwóch zwierząt, zupełnie jeszcze nie wyróżnionych, następują w nich przemiany, prowadzące do zupełnej zmiany ich budowy wewnętrznej i do wymiany jąder. Podobne fakty można też znaleźć wśród świata roślinnego (n. p. *Closterium*). Można by przytoczyć jeszcze wiele podobnych przykładów; dowodzą one tego faktu, że powstawanie komórek płciowych odbywa się często dopiero wskutek wzajemnego wpływu niezróżniczkowanych komórek, z których się płciowe mają rozwinąć. U *Monocystis ascidiae* jest ten wpływ lepiej widocznym niż w innych przypadkach.

Czasami może się zdarzyć, że dwie połączone gregaryny dojdą do stadium, w którym się wzajemnie podrażnią, lecz potem jedna z nich zginie lub też przestanie się rozwijać dalej wskutek jakichś nieznanych przyczyn. Mimo to z drugiego indywiduum powstają zupełnie normalne sporoblasty posiadające jedno jądro. Cystę taką wyrysowano z żywego okazu na rycinie 19. Widocznie rozwój płciowy przeszedł w niej tylko przez pierwsze stadium; zwierzęta zespoliły się, wymieniły podniecie, a ten krótki, chwilę tylko trwający wpływ wystarczył, by je popchnąć na drogę, prowadzącą do rozwoju sporoblastów; późniejsza przemiana patologiczna w jednym osobniku dlatego nie wpłynęła wcale na normalny bieg rozwoju drugiego, ponieważ oba zwierzęta po wymienieniu podrażnień znów się od siebie oddzielają.

Nasuwa się tutaj pytanie: czy oba osobniki wśród cysty z równą siłą na siebie działają, czy też jest przewaga po stronie jednego z nich? Już poprzednio zazaczyliśmy, że oba zwierzęta połączone są zazwyczaj równej wielkości i jednakowo się barwią. Przychodzi jednak stadium, w którym jeden osobnik wsuwa tępą wypustkę w ciało drugiego (Ryc. 9., 12. i 13.); w tym czasie jest pewna różnica między gregarynami wśród cysty i występuje przewaga i akcja czynna jednej w przeciwieństwie do bierności drugiej. W żywej cyście widać w tym stadium, jak na powierzchni granicznej między obu osobnikami powstają raz ze strony jednego, to znów drugiego małe wypustki, dążące do ciała sąsiedniego zwierzęcia; wypustki te po krótkiej chwili cofają się i znów powstają w innym miejscu. Patrząc na to odnosi się wrażenie, jak gdyby obie gregaryny próbowały swych sił, aż wreszcie jedna zyskuje

przewagę i tworzy dużą wypustkę. Obie mają równe dane do tego, i zdaje się, że jest to rzeczą zupełnie przypadkową, która z nich wejdzie w stan czynny,

Wobec tego, że obie gregaryny encystowane mają równą wartość morfologiczną i fizyologiczną, przypuszczać należy, że i sporoblasty z nich obu powstające są zupełnie równej wartości, tembardziej, że nie różnią się wcale swym kształtem. Wobec tego nasuwa się kwestya, czy podczas kopulacji łączyć się mogą tylko sporoblasty z różnych osobników pochodzące, czy też może sporoblasty, pochodzące z tej samej komórki macierzystej mogą się zespolić? To pytanie jest trudne do rozstrzygnięcia, jednak wiele danych przemawia za tem, że tylko z różnych indywiduów pochodzące sporoblasty mogą się łączyć. Nigdy nie widzieliśmy pojedynczej gregaryny otaczającej się błoną (*enclystement solitaire*. F. Mesnil i M. Caullery) i wydającej we wnętrzu sporoblasty zdolne do dalszego rozwoju. Zawsze dwie gregaryny (raz tylko widzieliśmy trzy) otoczone wspólną błoną, rozpoczynają cykl rozwoju płciowego. Jeśli w połowie rozwoju jedno indywiduum zginie, to drugie wprawdzie wyda sporoblasty (Ryc. 19.), lecz te nie są zdolne do kopulacji między sobą i niebawem giną. — W cyście z ryciny 19, sporoblasty miały jedno normalne jądro, lecz znać było, że są w okresie rozpadu, gdyż ich plazma była dziwnie ziarnista i przetkana była wakuolami. I w cystach normalnych, jak powyżej powiedziano, znajduje się zazwyczaj po kilka lub kilkanaście takich sporoblastów, które nie łączą się w pary i wnet też giną. Być może, że jest to nadmiar sporoblastów wytworzonych przez jedną gregarynę; dla nich już nie starczy osobników z drugiej gregaryny, to też, nie mogąc ani rozwijać się samodzielnie, ani połączyć między sobą, ulegają one zagładzie.

Być może, że objawy chemotaxis, która spowodowała zbliżenie się i rozwój dwóch gregaryn przenoszą się też na ich potomstwo, na sporoblasty; istnienie zaś rozgraniczenia między gregarynami aż do stadyum kopulacji sporoblastów jest rodzajem urządzenia ochronnego, powstrzymującego zawczesne ich zbliżenie się. Pośredni dowód na korzyść twierdzenia, że tylko sporoblasty z różnych osobników pochodzące mogą się zespolić, mamy w analogii, jaka zachodzi między rozwojem płciowym *Monocystis ascidiae* a podobnemi stadyami rozwoju opisanemi u *Trichosphaerium Sieboldi* (Schaudinn). W pewnym okresie rozwoju tego zwierzęcia tworzy się we wnętrzu jego ciała mnóstwo małych ciałek kulistych opatrzonych dwiema długimi witykami. Te ciała przery-

wają osłonkę zwierzęcia i rojnie wypływają z jej wnętrza do wody morskiej. Jeśli niema w pobliżu drugiego osobnika w tem samym stadium rozwoju, to wszystkie te orzęsione zarodniki giną w krótkim czasie; jeżeli jednak po wypłynięciu z osłonki spotkają na swej drodze podobne do siebie zarodniki rozwinięte z innego *Trichosphaerium*, to natychmiast zaczynają się łączyć z nimi, tworzą pary i zlewają się wkońcu w jedno większe ciało. Ich jądra i plazma zespalają się zupełnie podobnie, jak podczas kopulacji sporoblastów u *Monocystis*. Takie złączone indywidua rozwijają się wprost w zwierzę dorosłe, zdolne do rozrodu bezpłciowego. Analogia między rozwojem *Trichosphaerium* a objawami u *Monocystis* da się przeprowadzić, jak widzimy, nawet w drobnych szczegółach. U obu zwierząt rozwijają się ruchliwe osobniki, grające rolę komórek płciowych, te komórki w obu razach kopulują izogamicznie, efektem kopulacji w obu razach jest utworzenie się indywiduów zdolnych do rozrodu bezpłciowego. Można więc przypuszczać, że analogia ta jeszcze dalej się posuwa, i że u *Monocystis* pochodzenie komórek płciowych z odrębnych zwierząt jest równie koniecznym warunkiem kopulacji, jak u *Trichosphaerium*. Różnica między obu gatunkami polega głównie na tem, że u *Trichosphaerium* komórki płciowe wytwarzają się w osobnikach oddzielnie leżących, nie tak jak u *Monocystis*. Fakt zaś, że kopulacja odbywa się u *Trichosphaerium* w otaczającym je środowisku, podczas gdy u *Monocystis* przebiega we wnętrzu cysty, da się łatwo wytłómaczyć przystosowaniem się tej gregaryny do pasorzytniczego sposobu życia.

Pozostaje nam do rozstrzygnięcia kwestya redukcji chromatyny podczas objawów płciowych u *Monocystis ascidiae*. Podczas kopulacji sporoblastów zespalają się oba ich jądra w zupełności i nie można wykryć ani śladu takich objawów, któreby wskazywały, że redukcya w tem stadium się odbywa. Natomiast wiemy, że po zespoleniu się dwóch niezróżniczkowanych gregaryn, ich jądra rozpadają się, części z nich zostają wydalone, a z reszty tworzą się małe nowe jądra, dające potem początek jądróm sporoblastów. Nasuwa się wniosek, że wydalenie części dużego jądra z gregaryn jest objawem redukcji chromatyny; małe, nowo powstające jądro byłoby zatem już zredukowane, a tak samo też i jądra sporoblastów, które wprost od niego pochodzą. Cuénot, który opisał również wydalenie części chromatyny z jąder gregaryn złączonych w syzygium, sądzi, że przez to gregaryny pozbywają się niepotrzebnej części jądra. Nazywa on ten objaw „czyszcze-

niem się jądra (*épuration nucléaire*), i porównywa go z wydalaniem jąderek, które można obserwować podczas zapłodnienia jajek pewnych zwierząt n. p. *Myzostoma glabrum* (Wheeler, Kostanecki). Wydalanie części jądra z *Monocystis* związanych w syzygium możnaby porównać z podobnym objawem opisanym u *Adelea ovata*. U tego zwierzęcia po zespoleniu się makrogameta z mikrogametocytem, jądro pierwszego z nich zbliża się do powierzchni plazmy i wydala z siebie część chromatyny, poczem cofa się i wraca do pierwotnego kształtu. Wydalanie chromatyny jest tutaj napewno objawem redukcji, podobnym do wydalania ciałek kierunkowych. Tak też i u *Monocystis* degeneracja części jądra dużego należy uważać przedewszystkiem za objaw redukcji chromatyny, a nie wyłącznie za *épuration nucléaire*, jak to twierdzi Cuénot.

Jak wspomniano Wolters opisał wydalanie ciałek kierunkowych z ciała *Monocystis* pochodzącej z dżdżownicy. Na podstawie badań Woltersa zbudował R. Hertwig wielką teorią, tyczącą się objawów zapłodnienia i redukcji chromatyny u tego zwierzęcia. Skoro jednak pokazało się, że badania Woltersa nie są dostatecznie ścisłe, lecz polegają na złych preparatach, to i teoria R. Hertwiga upaść musiała.

O powstawaniu sporozoitów.

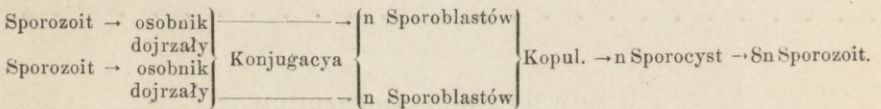
Opis przemian, jakie zachodzą w czasie rozwoju płciowego u *Monocystis ascidia* przerwaliśmy z tą chwilą, kiedy ze sporoblastów, przez ich połączenie się w pary, utworzyły się jednolite kule, wypełniające całą cystę. Kule te są znacznie większe od sporoblastów, ich przekrój wynosi 4. do 5.5 μ . Jądro, które po kopulacji było dość luźnie zbudowane, zaczyna się zbijać i barwi się teraz silniej. Równocześnie cała komórka nieco się wydłuża (Ryc. 20.). Rychło potem chromatyna wśród jądra zaczyna się zbierać na jego równiku i otrzymujemy typowy obraz małej figury karyokinetycznej (Ryc. 21. a). Karyokineza przebiega zupełnie normalnie i prowadzi do utworzenia się dwóch jąder we wnętrzu ciała plazmatycznego (Ryc. 21. b). Równocześnie cała komórka otacza się cienką błoną; można jej już teraz nadać nazwę „sporocysty“.

Nowo powstałe dwa jądra dzielą się znów, dając początek czterem jądom równomiernie wśród komórki rozłożonym (Ryc. 22.); i te jednak dzielą się po chwili jeszcze raz tak, że w rezultacie we wnętrzu sporocysty mamy ośm małych jąder. (Ryc. 23.). Układają się one albo

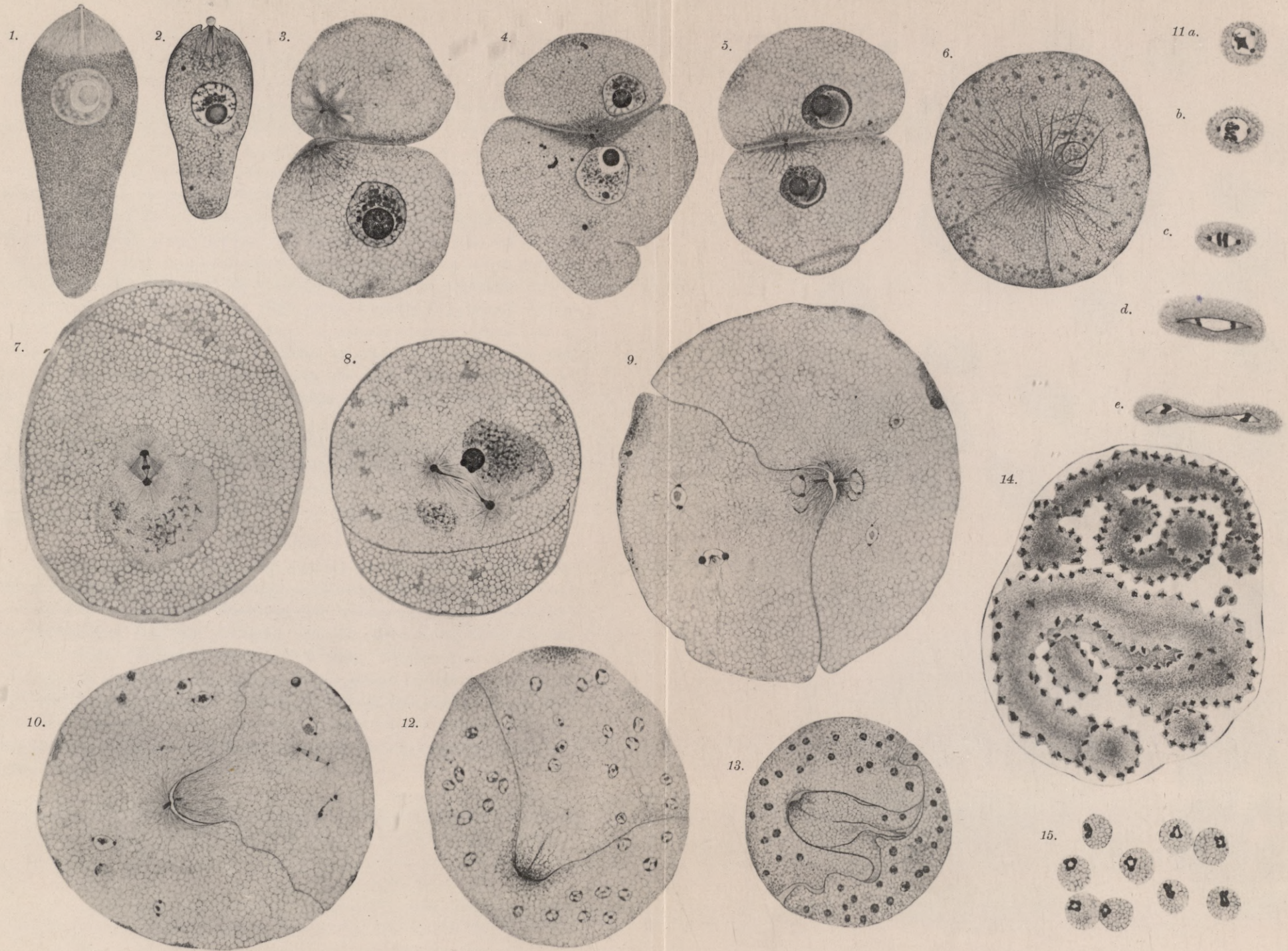
obok siebie na równiku komórki, albo też tworzą dwie grupy po cztery jądra ułożone na dwóch końcach sporocysty. Teraz ciało plazmatyczne sporocysty dzieli się na 8 podłużnych odcinków, z których każdy zawiera jedno jądro w swem wnętrzu. Cała cysta *Monocystis ascidiae* jest więc teraz wypełniona sporocystami, z których każda zawiera po ośm wydłużonych ciałek, kształtu sierpa, mających plazmę zbitą, drobnoziarnistą a pośrodku swego ciała jądro o gęstym zrębie chromatynowym. Te ciała kształtu sierpowatego są to „sporozoity“.

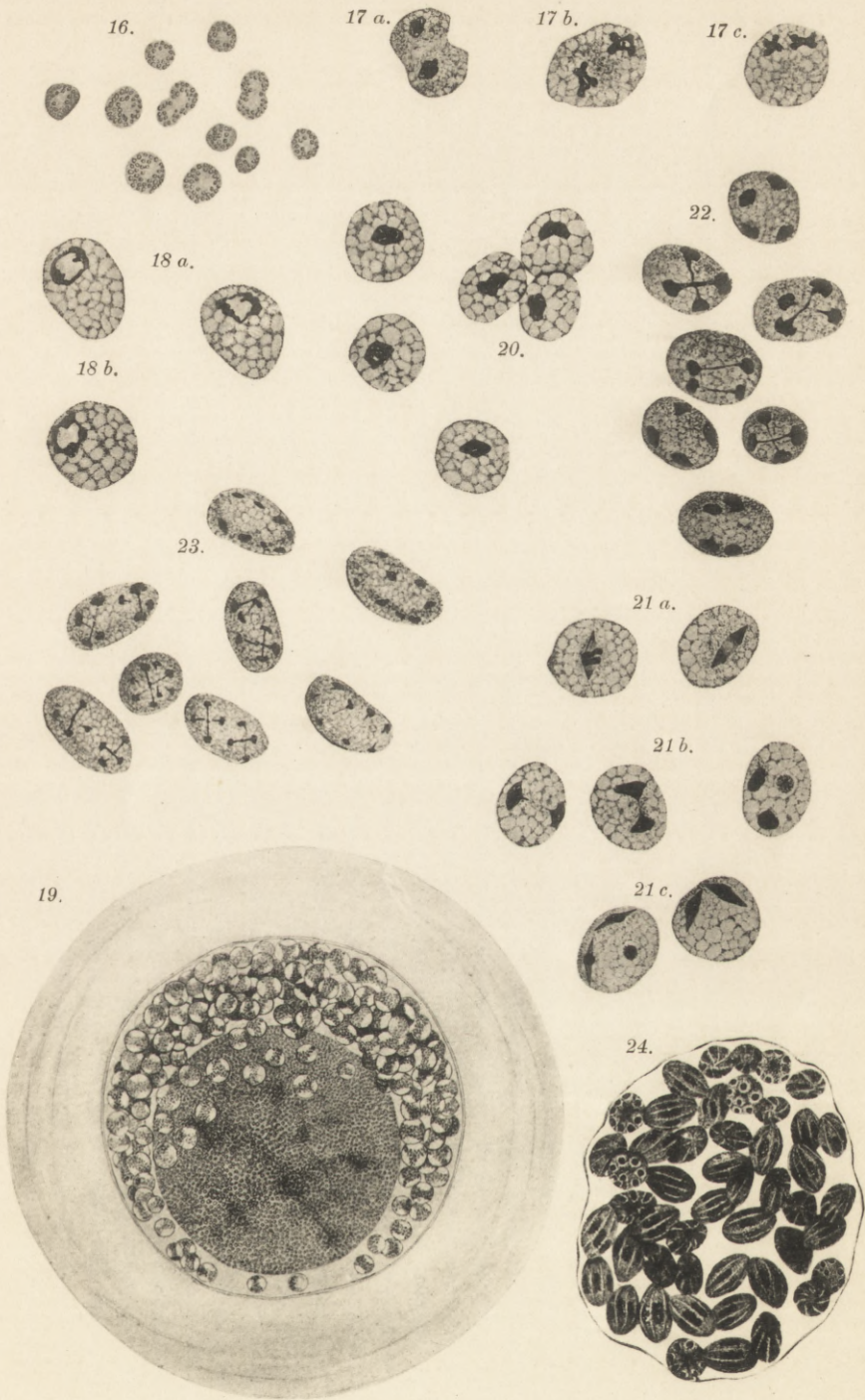
Jak to już dawno wiadomo, skoro cysta dojrzała dostanie się do wnętrza przewodu pokarmowego tego zwierzęcia, które jest żywicielem pasorzytów, to pod wpływem soków trawiących pęka jej osłona zewnętrzna. Sporocysty wysypują się i z kolei pękają także uwalniając przez to sporozoity. Ostatnie dążą do ścian jelita, wnikają w nabłonek, który stanowi warstwę wewnętrzną przewodu pokarmowego i powoli zmieniają się na dojrzałe gregaryny. Może też zajść taki przypadek, że zwierzę rozwinięte ze sporozoita od razu po dojściu do dojrzałości zacznie dążyć do połączenia się z drugim podobnym i do utworzenia syzygium.

Tak więc kończy się cykl rozrodu płciowego u *Monocystis ascidiae*. Jego przebieg można na schemacie tak sobie wyobrazić:



Rozwój płciowy u *Monocystis ascidiae* tem się różni od podobnych objawów zachodzących u innych grup Sporozoa, że jest izogamicznym, podczas gdy u *Coccidia* i *Haemosporidia* występuje typowa heterogamia (Schaudinn, Siedlecki, Lavéran, Simond, McCallum, Ross, Grassi i wielu innych). Izogamia zda się być cechą odróżniającą całą grupę gregaryn, a w szczególności grupę *Monocystidae* od innych gregaryn i od innych grup *Sporozoa*. U jednego rodzaju gregaryn z grupy *Polycystidae* wykazał, Léger w ostatnich czasach objawy płciowe, zbliżone do heterogamii. Bardzo być może, że są one formą przejściową między tymi dwoma rodzajami rozrodu płciowego.





Objaśnienia rycin.

Rycina 1., 16. i 19. są rysowane z żywych okazów, inne z preparatów krajanych i barwionych. Kontury wszystkich rycin zdejnowałem zapomocą mikroskopu Zeissa z soczewką przedmiotową immerzyjną, apochromatyczną $\frac{2,00}{1,30}$ i oczną Nr. 4. lub 6., oraz aparatu rysunkowego systemu Abbégo. Szczegóły badałem przez okulary 8. i 12.

Ryc. 1. Dojrzała niezróżniczkowana *Monocystis ascidiae*, żywa.

Ryc. 2. Taka sama, z preparatu barwionego metodą Heidenhaina.

Ryc. 3. Pierwsze zbliżenie się dwóch gregaryn.

Ryc. 4. i 5. Zaokrąglanie się syzygium; otworki w kutikuli ustawiają się naprzeciw siebie. W plazmie powstaje promieniowanie.

Rycina 6. Cysta nacięta z boku; od końca jednego zwierzęcia rozchodzą się promienie.

Ryc. 7. i 8. Zanik dawnych jąder w syzygium, pierwsza karyokineza jądra nowego.

Ryc. 9. 10. i 12. Syzygia, w których wewnątrz dzielą się i mnożą małe jądra; równocześnie wsuwa się wypustka jednego zwierzęcia w ciało drugiego.

Ryc. 13. Wypustka jednego ze zwierząt złączonych w syzygium fałduje się.

Ryc. 11. a—e. Podziały jąder wśród złączonych gregaryn.

Ryc. 14. Cysta, w której oba zwierzęta zamieniły się w pasy plazmy pocięte; na nich wysterki, z których się mają utworzyć sporoblasty.

Ryc. 15. Sporoblasty.

Ryc. 16. Sporoblasty leżące osobno, sporoblasty kopulujące i połączone w większe kule. Z okazu żywego.

Ryc. 17. Zespalanie się sporoblastów; z preparatu barwionego hematoksyliną i mieszaniną Ehrlicha i Biondego.

Ryc. 18. Młode sporocysty.

Ryc. 19. Cysta patologiczna, w której jedno indywiduum rozwinęło się w sporoblasty, drugie zaś degeneruje; z żywego okazu.

Ryc. 20. Starsze sporocysty.

Ryc. 21.—23. Podziały jądra w sporocystach.

Ryc. 24. Cysta pełna sporocyst, z których każda zawiera sporozoitę.

Spis prac uwzględnionych.

Van Beneden Eduard. Recherches sur l'évolution des grégaires. Bull. de l'Ac. Roy. de Belg. 2. XXXI.

Tenże. Note sur la structure des grégaires. Tamże. XXXIII.

Bosanquet C. Notes on a Gregarine of the Earthworm (*Lumbricus herculeus*) Quart. Jour. Micr. Sc. N. S. Vol. 36.

Rozpr. Wydz. mat.-przyr. T. XXXIX.

22

- Brauer A. Über die Encystierung von Actinosphaerium Eichhorni. Zeitsch. f. wiss. Zool. 58.
- Bütschli O. Kleine Beiträge zur Kenntniss der Gregarinen. Zeitsch. f. wiss. Zool. 35.
- Calkins Gary N. The Protozoa. New-York 1901.
- Caullery M. et Mesnil F. Le parasitisme intracellulaire et la multiplication asexuée des grégarines. C. R. soc. de Biol. 1901.
- Ciż sami. Sur un mode particulier de division nucléaire chez les Grégarines. Archives d'Anat. microsc. III.
- Ciż sami. Sur quelques parasites internes des Annelides. Miscellanées biologiques Travaux de la Stat. zool. de Wimereux VIII.
- Cecconi G. Intorno alla sporulazione della Monocystis agilis Stein. Boll. della Soc. botan. italiana 1901.
- Tenze. De la sporulation de la Monocystis agilis. Arch. d'Anat. microsc. V.
- Cuénot L. Évolution des grégarines coelomiques du grillon domestique. C. R. Ac. Sc. Paris CXXV. 1.
- Tenze L'épuration nucléaire au début de l'ontogenèse. Tamże CXXV. 3.
- Tenze. Sur la prétendue conjugaison des Grégarines. Bibliogr. anatom. fasc. 2. 1899.
- Tenze. Recherches sur l'évolution et la conjugaison des Grégarines. Archives de Biol. XVII.
- Doflein F. Die Protozoen als Parasiten und Krankheitserreger. Jena 1901.
- de Frantzius A. Observationes quaedam de gregarinis. Dissert. inaug. Bero- lini 1846.
- Frenzel J. Über einige in Seethieren lebende Gregarinen. Arch. f. mikr. Anat. XIV.
- Tenze. Über einige argentinische Gregarinen. Jen. Zeitsch. XXV.
- Giard A. Contribution à l'histoire naturelle des Synascidies. Arch. de Zool. exp. et gén. II.
- Grassi. Studi di un Zoologo sulla Malaria. Mem. R. Accad. dei Lincei. Classe d. sc. fiz. Vol. 3.
- Gruber. Beiträge zur Kenntniss der Amöben. Zeitschr. f. wiss. Zool. 36.
- Hertwig R. Über die Konjugation der Infusorien. Abhandl. der bay. Ac. d. Wis. II Cl. XVII.
- Tenze. Kerntheilung, Richtungskörperbildung und Befruchtung von Actinosphaerium. Tamże XIX. 2.
- Henneguy L. F. Formation de spores de la grégarine de Lombric. Annales de Micrographie 1888—89.
- Hoyer H. jun. Über das Verhalten der Kerne bei der Conjugation des Infusors Colpidium colpoda. Arch. f. mikr. An. 54.
- Kostanecki K. Die Befruchtung des Eies von Myzostoma glabrum. Arch. f. mikr. An. LI.
- Lang A. Lehrbuch der vergl. Anatomie. 2. Lieferung: Protozoa. Jena 1901.
- Lankester Ray. Remarks on the Structure of the Gregarinae. Quart. Journ. Micr. Sc. 1872 (praca znana z referatów).
- Lavéran A. Sur les modes de reproduction de Klossia helicina. C. R. Soc. biol. 1898.
- Léger L. Recherches sur les Grégarines. Tablettes zool. III.
- Tenze. Etude sur les Coccidies. Bul. Scient. d. France et d. Belgique. XXXI.
- Tenze. Sur la morphologie des éléments sexuels chez les Grégarines Stylophynchus. C. R. Ac. Sc. Paris 1901.
- Tenze. Les éléments sexuels et la copulation chez les Stylophynchus. Tamże.

- Lieberkühn N. Évolution des Grégarines. Mémoires couronnés et mém. des savant etrang. Ac. d. Belgique T. XXVI.
- Lühe. Ergebnisse der neueren Sporozoenforschung. Centr. für Bacteriol. und Parasitk. I. Abth. XXVII.
- Mc Callum. On the haematozoan infection of birds. Journ. of. exper. Med. V. 1898.
- Maupas. Recherches expérimentales sur la multiplication des Infusoires ciliés. Arch. d. Zool. exp. et gen. 2me Serie VI.
- Mesnil F. Coccidies et Paludisme. Revue gen. d. Sc. X.
- Tenže. Essai sur la classification et l'origine des Sporozoaires. Cinquantenaire de la Soc. d. Biol.
- Mingazzini. Classificazione dei Coccidi e delle Gregarine. Rendic. d. Acc. dei Lyncei 1892.
- Tenže. Le gregarine monocistidae dei Tunicati e della Capitella. Atti della Ac. dei Lyncei serie 4. VII.
- Mrázek. A. Studia o sporozoich. I. Děleni jaderné a sporulace u Gregarin. Věstnik král. české společnosti nauk. 1899.
- Parona. Protistologie de la Sardegne avec description des protistes nouveaux. Genève 1881—83.
- Rhumbler. Über Entstehung und Bedeutung der in den Kernen vieler Protozoen vorkommenden Binnenkörper. Zeitschr. f. wiss. Zool. LVI.
- Roboz. 'Adatok a gregarinák ismeretéhez. Ertek. a termesze. Köreböl, t. 16. (Praca znana tylko z referatu).
- Ross R. Du role des moustiques dans le paludisme. Ann. de l'Inst. Pasteur 1899.
- Schaudinn F. Über die Copulation von Actinophrys sol. Sitzber. d. Ac. d. Wiss. Berlin 1896.
- Tenže. Über den Generationswechsel der Coccidien und die neuere Malariaforschung. Sitzber. Ges. d. naturforsch. Fr. Berlin 1899.
- Tenže. Untersuchungen über den Generationswechsel der Coccidien Zoolog. Jahrbücher XIII. 1900.
- Tenže. Untersuchungen über den Generationswechsel von Trichosphaerium Sieboldi. Anhang zu den Sitzber. Ac. Wiss. Berlin 1899.
- Schmidt A. Beitrag zur Kenntniss der Gregarinen. Abhandl. der Seckenb. Nat. Ges. 1855.
- Siedlecki M. Etude cytologique et cycle évolutif de la coccidie de la seiche. Ann. de l'Inst. Past. 1898. XII.
- Tenže. Etude cytologique et cycle évolutif de Adelea ovata. Tamže 1898. XIII.
- Tenže. Über die geschlechtliche Vermehrung der Monocystis ascidia. Bull. intern. Ac. Sc. Cracovie 1899.
- Tenže. Contribution á l'étude des changements cellulaires provoqués par les grégarines. Arch. d. Anat. micr. IV.
- Schneider A. Contribution á l'histoire des Grégarines des invertébrés Arch. d. Zool. exp. et gén. IV.
- nenže. Seconde contribution á l'étude des Grégarines. Tamže X.
- Tenže. Etudes sur le développement des Grégarines. Tablettes zoologiques I.
- Tenže. Grégarines nouvelles ou peu connues. Tamže.
- Simond. L'évolution des sporozaires du genre Coccidium. Ann. de l'Institut. Pasteur XI.
- Swingle W. T. Zur Kenntnis der Kern und Zellteilungen bei den Sphacelariaceae. Jahrb. f. wiss. Bot. XXX.

Wasielowski. Sporozoenkunde. Jena 1896.

Wilson. Ed. B. The Cell in Development and Inheritance. New York 1900.

Wheeler. The maturation, fecundation and early cleavage of *Myzostoma glabrum*.
Arch. d. Biol. 15.

Wolters. Die Conjugation und Sporenbildung bei den Gregarinen. Arch. f. mikr.
An. XXXVII.

