

ZVONIMIR DEVIDÉ

HROMOSOMI CILIJATA

(*Euciliata* i *opalinida*)

S 1 slikom u tekstu i 9 tabla

(Primljeno u sjednici Odjela za prirodne i medicinske nauke od 3. II. 1950.)

PREDGOVOR

Nakon prekida od četiri godine pružila mi se mogućnost, da u Botaničkom zavodu Sveučilišta u Zagrebu nadopunim i završim započeta istraživanja hromosoma kod cilijata, koja sam bio izveo većim dijelom još kao student.

Neke znatnije rezultate mojih istraživanja objavio je (s mojim znanjem i suglasnošću) pod zajedničkim imenom prof. dr. L. Geitler¹, pod čijim sam vodstvom izvršio i glavni dio tih istraživanja.

Kako sada ovdje objavljujem svoja istraživanja u cjelini, ugodna mi je dužnost, da g. prof. dr. Geitleru zahvalim na svim danim uputstvima te svestranoj pomoći, kao i na trudu i brizi oko objavljivanja spomenutog izvatka. Također zahvaljujem i g. prof. dr. F. Ruttneru za gostoprimstvo na Biološkoj stanici u Lunzu, gdje sam dovršio veći dio svojih istraživanja.

G. akademiku prof. dr. V. Vouku zahvaljujem, što mi je pružio priliku, da završim ova istraživanja u Botaničkom institutu Prirodoslovno-matematičkog fakulteta sveučilišta u Zagrebu.

Osim mnogih dopuna u vlastitim zapažanjima, iscrpnijih podataka iz literature i novih pogleda općenitog značenja, ovdje su prvi put objavljena moja istraživanja diobe jezgara kod opalinida *Opalina ranarum* i *Cepedea dimidiata*.

Svi crteži su originali i osim triju (br. 70, 76 i 77) ovdje su prvi put objavljeni.

I. UVOD

Povod ovim istraživanjima dala su naslućivanja, da se kod makronukleusa cilijata vjerojatno radi o endomitotski poliploidiziranoj jezgri (Geitler 1939. a, 1940. a, b, Piekarski 1941.). Moje

¹ Devidé u. Geitler, Die Chromosomen der Ciliaten, Chromosoma 3, 1947.

prvobitna namjera bila je, dakle, u tom pravcu egzaktno istražiti izvjesne pogodne objekte.

Preduslov uspjeha takvih istraživanja je dakako besprikorno poznavanje kariologije mikronukleusa, pošto makronukleus nastaje iz njegovih derivata. Međutim je već prvi uvid u literaturu pokazao, da nema kod eucilijata nikakve sigurne kariološke osnove, na kojoj bi istraživanja građe makronukleusa mogla dovoljno sigurno bazirati. Čak je neriješeno pitanje, koje su tvorevine zapravo kod eucilijata hromosomi? Najrazličitije tvorevine opisivane su kao hromosomi, a posljedica toga su nesigurni navodi o broju hromosoma kod pojedinih vrsta te nevjerovatni i protuslovni podaci o toku mejoze i mitoze.

Upoznavši tu problematiku, odustao sam od prvobitne namjere istraživanja poliploidije makronukleusa te odlučio, da pokušam najprije riješiti osnovne probleme kariologije eucilijata. Prema tome je zadatak ovih istraživanja bio pronaći općenito tumačenje promjene oblika hromosoma kod eucilijata te ga pokušati dovesti u sklad s gledištima moderne citologije.

Prva istraživanja, koja sam vršio, potvrdila su, da tvorevine, koje su dosad u literaturi bile opisivane kao hromosomi, nisu i ne mogu biti hromosomi. Moglo se međutim očekivati, da će se na izvjesnom razvojnom odsječku moći vidjeti hromosomi i u svojoj tipičnoj formi, i zaista mi je pšlo za rukom pronaći objekte, kod kojih se u mejozi pojavljuju hromosomi u svom normalnom obliku. U toj diobi ili u njezinim pojedinim stadijima oni pokazuju sve karakteristike, koje moramo sa stanovišta suvremene citologije smatrati bitnim karakteristikama hromosoma.

Iskustvom, stečenim kod najpodesnijih stadija, obratio sam se teže razumljivim stadijima i pokušao ih interpretirati.

Konačno sam svratio pažnju opalinidama — kod kojih su kariološke prilike detaljno poznate kod roda *Zelleriella* (Chen 1932. a, b, 1936. a, b, 1948.) — da bih usporedio kariološke prilike kod opalinida s prilikama kod eucilijata. Pokazalo se, da sve *Opalinidae* nemaju tako jednostavno građene jezgre kao *Zelleriella*, nego da ima i tu slučajeva, kod kojih građa jezgara podsjeća na građu mikronukleusa eucilijata. Ta je poredba dakle pokazala, da s obzirom na građu jezgara ne postoji između obiju grupa cilijata, t. j. između protocilijata (opalinida) i eucilijata (pravih cilijata) takav jaz, kao što se to činilo nakon publikacije glavnih rezultata mojih istraživanja 1947. g.

Ovdje objavljenim istraživanjima pokušao sam dakle riješiti osnovne probleme kariologije eucilijata; nekih opalinida (*Opaliniinae*) te prije svega naći osnovu za ispravno shvaćanje morfologije hromosoma spomenutih praživotinja.

II. PREGLED LITERATURE

Stariju literaturu obradio je Bělař (1926.) u svom zbirnom prikazu. Ondašnje stanje nauke o hromosomima kao i nepouzdana navodi dotadašnje literature onemogućili su Bělařu, da dađe prikaz građe jezgara i hromosoma kod cilijata na način, koji bi mogao zadovoljiti. Zbog toga su njegova izvađanja puna skepse te dopuštaju kod cilijata mogućnost većeg odstupanja u promjenama oblika hromosoma u poredbi s ostalim organizmima, budući da cilijati pokazuju i inače mnoge osebnosti.

Bělař nailazi na slijedeće probleme: Građa mikronukleusa odstupa od strukturne sheme ostalih protista i postojanje nukleolarne supstance mikronukleusa otvoreno je pitanje. Strukturne promjene makronukleusa u vezi s amitozom nisu dobro poznate te su bez svake interpretacije. Nadalje nedostaje bilo kakvo uporište, koje bi objašnjavalo prijelaz od homojokariotskog k heterokariotskom stanju. Pojave redukcijske diobe cilijata obiluju neriješenim problemima. Prije svega prema Bělařovim navodima ne mogu se naći nikakve osobitosti, koje bi dozvoljavale, da se može govoriti o tetradama ili dvostrukim hromosomima. Podaci o brojevima hromosoma u vrijeme zribohenih dioba i odsutnost prethodnog parenja hromosoma ukazuju na primarni tip redukcije, koji ne postoji inače nigdje u carstvu organizama.² O pojavama redukcijske diobe kod opalinida je vrlo malo poznato. Bělař smatra, da doduše postoje važne indicije za postojanje tipičnih redukcijskih pojava kod cilijata, ali da je do uvida u pojedinačne prilike još dalek put.

Za idućih 20 godina od Bělařovog prikaza bez sumnje su najvažnija istraživanja Chena (Chen 1932. a, b, 1936. a, b, 1948.) na nekim opalinidama, koja su pokazala, da i kod cilijata postoje hromosomi u obliku, koji je značajan za sve više organizme.

1932. g. opisao je Chen mitoze kod jedne vrste opalinida roda *Zelleriella*. Našao je, da je vladanje hromosoma ovdje u biti jednako kao kod viših organizama te je utvrdio kao broj hromosoma 24. (Chen 1932. a, b). Kasnije je isti autor dao detaljni prikaz mitoze kod opalinide *Zelleriella* (Chen 1936. a, b). U toj studiji objavljeni su ovi nalazi, nađeni prvi put kod opalinida: 1. hromosomi su različite veličine i oblika te se mogu individualno prepoznavati, 2. postoje po dva hromosoma iste veličine i oblika, što ukazuje na diploidiju, 3. nukleoli, koji perzistiraju za vrijeme diobe, konstantno su udruženi s određenim dijelovima izvjesnih hromosoma. Od 24 hromosoma može ih 4 ili 6 (2 ili 3 para) — već prema podvrsti — imati uz sebe nukleolus. Odsječak hromosoma, na kojem je nukleolus smješten, značajan je i identičan za svaki par hromosoma te može pretrpjeti

² Ti su podaci o redukciji broja hromosoma (Calkins, Mac Dougal, Popoff, Mulsow) međutim pogrešni, pošto se odnose na tvorevine, koje su bile krivo shvaćene kao hromosomi.

znatne strukturne modifikacije. Nukleoli se mogu fuzionirati, ako budu stisnuti zajedno, zbog čega njihov broj prividno varira. T. zv. »makrohromosomi« nisu hromosomi, već nukleolarni predjeli izvje-snih hromosoma.

U svom najnovijem djelu (Chen 1948.) autor je objavio detaljna istraživanja na pet vrsta roda *Zelleriella* (od toga su četiri novo opisane vrste) i na jednoj vrsti roda *Protoopalina*. Diploidni broj hromosoma kod svake vrste roda *Zelleriella* je 24. Feulgen-negativni nukleoli mogu biti povezani s hromosomima na tri načina, naime: izvan hromosoma, u hromosomima ili izvan hromosoma i u hromosomima. U zadnja dva slučaja hromosomni segmenti, koji su povezani s nukleolima, postaju prošireni i pokazuju strukturne promjene (»puffed regions«). U poredbi s ostalim hromosomima, vladanje je hromosoma, koji nose nukleole, normalno. U anafazi vuče svaka od njihovih hromatida sa sobom svoju polovinu nukleola.

Chenova istraživanja obuhvaćaju samo jednu grupu opalinida, *Protoopalinae*, koje imaju dvije razmjerno vrlo velike jezgre. Druga skupina opalinida, *Opalininae*, ima mnogobrojne jezgre, ali te su manje od jezgara protoopalinina, pa prilike kod njih nisu tako jasne.

Istražujući opalinine među ostalim, Ivanić (1933. a, 1934. a, b i 1936.) smatra, da su »makrohromosomi« samo grude »plastinskog kariosoma«, koji može za vrijeme diobe djelomično nestati ili se nepravilno razdjeljuje na jezgre-kćeri. Plazmatska tjeleška Ivanić drži za jezgre, slično kao već prije Konsuloff (1922., 1930., 1931.).

Valkanov (1934.) misli, protivno Konsuloffu i Ivaniću, da kod opalinida postoji samo jedan tip jezgara. T. zv. »makrohromosome« također drži homolognim nukleolima.

Istraživanja na jezgrama pravih cilijata (*Euciliata*) nakon Bělařovog prikaza (Bělař 1926.) nisu ništa bitno pridonijela, što bi omogućilo, da se tumačenje karioloških prilika eucilijata uskladi s gledištima moderne nauke o hromosomima.

Wetzel (1925.) je u svojoj komparativno-citološkoj studiji opisao građu jezgara cilijata samo u stanju mirovanja.

Poljansky (1926.) navodi za rod *Dogielella*, da se u mejozi raspadaju hromosomi na »zrnca«, t. j. da se »hromatinski elementi udružuju u hromosome« (str. 419.—420.). Do te nevjerojatne predodžbe dovodi autora mišljenje, da se tvorevine, koje nastaju u somatskoj mitozu mogu homologizirati s pravim hromosomima.³

Noland (1927.) naziva »hromosomom« — pod apostrofofom — čudnovatu vrpčastu tvorevinu, koju je zapazio u prvoj diobi mikro-nukleusa kod konjuganata vrste *Metopus sigmoides*.

³ Sl. 3. do 6. na tab. 16. Poljanskoga vjerojatno su pogrešno serirane: sl. 4. i 5. po svoj prilici ne predstavljaju I. anafazu već stadije profaze, tako da bi slike morale ići ovim redom: 2., 5., 4., 3., 6.

Manwell (1928.) također naziva kod oksitrihide *Pleurotricha lanceolata* u zriobenim i ostalim diobama najrazličitije tvorevine hromosomima (bučicama slične sitne tvorevine, štapičaste velike tvorevine i čislu slične nakupine).

Weyer (1930.) je pokušao dokazati uzdužno cijepanje tobožnjih hromosoma u somatskoj mitozu kod hipotrihog cilijata *Gastrostyla steinii*. Figura, koja predstavlja metafazu s uzdužno rascijepljenim hromosomima, čini se, da je shematizirana. Stadiji razlaženja tih t. zv. hromosoma prikazani na slikama i izlaganja u tekstu ne dozvoljavaju, da bi tvorevine, koje nastaju u somatskoj diobi mikronukleusa, smatrali zaista hromosomima. Prema Weyerovim navodima naime hromosomi, nastali nakon uzdužnog cijepanja klize u anafazi paralelno jedan uz drugoga svaki k svojem polu sa suprotnim krajem, što čini nevjerovatnim, da bi to bili pravi hromosomi.

Turner (1930.) nalazi kod vrste *Euplotes patella* u somatskoj mitozu: 8 t. zv. hromosoma, u I. mejotskoj diobi 32, a u II. mejotskoj diobi 16 tobožnjih hromosoma.

Kod *Uroleptus halseyi* navodi Calkins (1930.), da se hromosomi dijele poprijeko i da u mejozi nastaju »zrnca«, koja se udružuju u hromosome. Nakon duljeg raspravljavanja Calkins je posumnjao u opravdanost usklađivanja fenomena zriobenih dioba s egzaktnim mejotskim procesima kod metazoa.

Eksemplarska je opisala (1931.) kod cilijata *Anoplophrya* sp. mitozu mikronukleusa, u kojoj nastaju iz prstenaste nakupine hromatina najprije dva, a zatim četiri hromosoma. Njezini crteži tome očito protuslove i dokazuju, da se tu ne može raditi o hromosomima.

Poljansky je (1934.) detaljno analizirao tok konjugacije kod vrste *Bursaria truncatella*. Prema njegovim navodima u prvoj se zriobenoj diobi nakon stadija »padobrana« hromatinska zrna sakupe u ekvatorijalnoj ravnini, gdje se pretvore u male štapičaste hromosome, kojih broj iznosi preko sto. Raspravljajući probleme promjene oblika hromosoma kod eucilijata, Poljansky se protivio dosada spomenutim navodima s prijedlogom (kao već ranije Bělař — vidi Bělař 1926., str. 408.), da bi trebalo te t. zv. hromosome shvatiti kao zbirne hromosome.

Hromosomi nisu isto tako ni tvorevine, koje je opisao Piekarski (1939.) kod vrste *Colpoda steinii*. On navodi kao diploidni broj najmanje tri a vjerojatno četiri hromosoma, koji se dijele poprijeko.

Turner (1941.) u djelu Calkins and Summers: Protozoa in Biological Research u poglavlju »Fertilization« raspravlja među ostalim i o mejozi kod cilijata. On navodi, da su u prvoj zriobenoj diobi hromosomi sastavljeni od određenog broja »odvojeno udruženih« (loosely associated) hromomera i da je druga mejotska dioba

redukcijska dioba. Tvorevine, koje nastaju u postmejotskim, metagammim i somatskim diobama, smatra hromosomima.

R a a b e je (1946.) opisao kod cilijsata *Urostyla grandis* somatske mitoze mikronukleusa, kod kojih ne nastaju pravi hromosomi (misli se vjerojatno na tvorevine, koje su bile dosada u literaturi opisivane kao hromosomi), već hromosomni elementi u obliku zrnaca. Ta zrnca stvaraju u profazi traku, koja se kasnije raskine na 12 segmenata. Ti segmenti poredaju se uzduž glavne osovine vretena mikronukleusa. Nakon kontrakcije tih tvorevina putuju njihova hromatinska zrnca prema polovima. Osim tog tipa diobe mikronukleusa opisana su još dva druga, od kojih se jedan smatra pojednostavljenim, a drugi degenerativnim.

III. VLASTITA OPAŽANJA

MATERIJAL I METODA

Materijal za istraživanje uglavnom sam dobavljaao iz infuzija, koje sam uvijek iznova postavljao u većem broju i na različite načine. Ispočetak nisam birao materijal, nego sam istražio svaku vrstu, koja se pojavila u većem broju. Kako mi je bila kod istraživanja glavna misao istražiti promjene oblika hromosoma kroz čitav životni ciklus cilijsata, naročito za vrijeme mejoze, potrebno je bilo postići konjugacione epidemije. Razrjeđenjem infuzija destiliranom vodom i povišenjem temperature (termostat, 26°—28° C), često mi je pošlo za rukom prouzrokovati depresiona stanja, a posljedica toga bile su konjugacione epidemije. Čiste kulture vrsta nisam pravio, pošto bi mi time bio vrlo smanjen izbor materijala, a mnoge vrste, za koje metoda čiste kulture ne pravi poteškoće, pokazale su se kao vrlo nepogodni objekti, na pr. *Paramecium caudatum*. Opalinite sam dobio iz rektuma žaba *Rana esculenta* L. (*Cepedea dimidiata* Stein) i *Rana agilis* Thomas (*Opalina ranarum* Ehrbg.). Sadržaj žabljeg rektuma pomiješao sam u čašici s nekoliko kapi Ringerove otopine (modificirane za amfibijske) i dobivenu kašu prenio u uske tube, odakle sam finom pipetom s dna, gdje su se opaline sakupile, vadio materijal te ga odmah fiksirao.

Kao metodom fiksiranja i bojenja služio sam se skoro isključivo metodom karmin-octene kiseline (octenog karmina). Ta danas toliko prokušana metoda pokazala se i kod istraživanja cilijsata kao najpodesnija.⁴

Smjesa alkohola i octene kiseline dovoljno razara pelikularne i plazmatske strukture, a i mnoge plazmatske uklopine, čime se vanredno poboljšavaju optički uvjeti za promatranje jezgara. Na taj se način lakše izbjegne mikrotomiranje, a to je velika prednost, jer

⁴ Karmin-octenu kiselinu upotrebila je s uspjehom već Stevens (1910.).

time nije uštedeno samo mnogo vremena i posla, već su i dobiveni rezultati sigurniji.

U octenom karminu, koji sadrži 45% octenu kiselinu, hromosomi nešto nabubre te se mogu optički lakše razdvojiti nego u balzamskim preparatima, u kojima su zbog anhidriranja smežurani i zato dosta manji.

Uz te prednosti octeni karmin boji strukture jezgre uglavnom praparelnom Feulgenovom nuklealnom bojenju te prema tome može u izvjesnim granicama poslužiti i kao indikator za timonukleinsku kiselinu (to vrijedi dakako samo za »hromatin«, t. j. za strukture jezgre).

Kao smjesu za prethodno fiksiranje kod istraživanja tehnikom octenog karmina upotrebljavao sam smjesu alkohola i ledenog octa u omjeru 3:1. Za nježnije cilijate, koji nisu izdržali tako visok postotak octene kiseline, morao sam modificirati omjer na 10:1, a pače na 20:1, što je, razumljivo se, nešto nepovoljno djelovalo na intenzitet bojenja. Fiksiranje je trajalo 1—2 minute. Zatim sam dio materijala odmah preparirao karmin-octenom kiselinom, dok sam veći dio konzervirao u alkoholu. Kod svih tih operacija služio sam se centrifugom. Mikroskopski preparati, uokvireni vazelinom, drže se u karmin-octenoj kiselini dulje vremena; na hladnom mjestu i do mjesec dana.

Osim metodom karmin-octene kiseline služio sam se i fiksacijom Fleming-Benda smjesom ili Schaudinnovim sublimatnim alkoholom (skoro uvijek s prethodnim dimljenjem parama osmišljava tetroksida) te bojenjem Feulgenovom nuklealnom reakcijom. Obično sam sve te operacije izvodio na pokrovnom stakalcu, na kojem sam objekte pričvrstio pomoću bjelanca. Ipak su mi ti preparati poslužili uglavnom samo za kontrolu. Konačno sam kontrolirao slike dobivene fiksiranim preparatima i opažanjima na živim objektima — ukoliko je to bilo moguće (*Colpidium campylum*, *Stylonichia* sp., *Chilodonella dentata*).

Svi priloženi crteži, koji nemaju posebnih podataka o tehnici, izrađeni su po karmin-octenim preparatima.

EUCILIATA

1. *Colpidium campylum* Bresslau

(sl. 1. do 55., tab. I, II, III.)

Colpidium campylum pojavio se u jednoj infuziji od *Ranunculus trichophyllus* u vrlo velikoj množini u skoro čistoj kulturi. Razrjeđenjem kulturnog medija svježom vodom došlo je do konjugacione epidemije, koja je trajala dva dana.

Istraživana vrsta bila je određena pomoću Kahlovog ključa kao *Colpidium campylum* Bresslau. Podudarala se u svim osobinama, koje navodi Kahl za *Colpidium* (*Tillina*) *campylum* (Stokes 1886.) Bresslau 1922. (*Glaucema colpidium* Schew. 1896.).

Mikronukleus.

Mikronukleus leži u interfazi tijesno uz makronukleus te je u tom stadiju skoro posve homogen. U gustoj, homogenoj hromatinskoj masi može se zapaziti nekoliko sitnih alveola (sl. 1.). U »profazi«⁵ se izdiferenciraju sitna zrnca (sl. 2), koja se u »prometafazi« (sl. 3. i 4.) slože u nepravilne tvorevine — meridijane⁶. Jezgra je u tom stadiju vretenasto produljena, a meridijani se nešto stegnu te sačinjavaju »metafaznu ploču« (sl. 5.). Dolazi li uvijek do tog stadija ili ne, teško je odlučiti na osnovu pregledavanja fiksiranih preparata. Cinjenica, da sam od nekoliko stotina istraženih stadija diobe mikronukleusa našao taj stadij svega samo tri puta, ukazuje na to, da je taj stadij kratkog trajanja (rana anafaza?), a možda je i samo specijalni slučaj stadija »prometafaze«, pa je zato tako rijedak.

U »anafazi« se (sl. 6. do 8.) meridijani poprečno prekinu, a njihove se polovice pomaknu k polovima. U kasnoj »anafazi« su obje ploče još povezane cjevastim dijelom, koji u ranoj »telofazi« (sl. 9.) nestaje.

U »telofazi« se jezgrama-kćerima vraća znasta struktura »profaze«, koja zatim nestaje i jezgre postaju skoro posve homogene. Tada se i makronukleus produljio, a mikronukleusi se nalaze uz njegove krajeve.

Makronukleus.

Promjene na makronukleusu za vrijeme diobe studirali su točno Kidder i Diller (1934.). Makronukleus, koji ima u stanju »mironovanja« više ili manje nepravilan oblik (sl. 2.), pri početku se diobe zaokruži i u njegovu središtu se pojavi homogena gušća hromatinska masa, koja se povećava i postepeno intenzivnije bojadiše (sl. 5.). Zatim se makronukleus produži (sl. 10.), a spomenuta hromatinska masa kod toga dobiva oblik ploče, koja u pravcu okomitom na uzdužnu osovinu dostiže rub makronukleusa (sl. 11.). Na tom mjestu se makronukleus utanjivanjem prekine u isto vrijeme s diobom životinjice (sl. 12.). U životinjicama-kćerima dođe nakon diobe do eliminiranja hromatina (sl. 13. i 14.). Vlastita opažanja podudaraju se posve s podacima Kidderovim i Dillerovim, jedino sam mogao redovno primjećivati, da dolazi paralelno sa stvaranjem »hromatinskog centra« i do »pogrubljivanja« strukture makronukleusa (usporedi sl. 5. sa sl. 2. i 14.).

⁵ Budući da se hromosomi u diobi mikronukleusa ne pojavljuju u svom normalnom obliku, ne mogu se faze diobe točno odrediti. Iz tog razloga stavio sam izraze, koji se odnose na stadije diobe, pod navodnim znak. Izrazi pod navodnim znakom se odnose dakle samo na izvanjski izgled jezgre u diobi, dok nam je stvarno stanje nepoznato.

⁶ Izraz »meridijan« sam preuzeo od G. Haasa (1933.), koji se, koliko je meni poznato, prvi ustručavao nazvati te tvorevine hromosomima te je zato izabrao izraz »meridijan«.

Konjugacija.

Oba konjuganta zahvate se svojim prednjim dijelom, kod čega ostanu usni otvori slobodni. Uskoro nakon sjedinjenja prijede mikronukleus svakog partnera u profazu I. mejotske diobe, kod čega dobiva oblik slabo zavnutog srpa, koji se proteže kroz čitavu životinjicu. Prema kraju profaze se jezgra stegne i pojave se hromosomne tetrađe, koje se zatim svrstaju u metafazi. Jezgra leži nakon stezanja srpastog stadija uvijek u prednjem dijelu životinje, nekako između makronukleusa i usnog otvora. Odstupanje od te pojave je rijetko. U anafazi I. mejotske diobe rastegne se jezgra, t. j. diobeno vreteno tako jako, da se proteže kroz čitavu životinjicu. Jezgra-kći, koja dođe tako u stražnji dio životinje, mora se po svoj prilici vrlo brzo vratiti natrag u prednji dio životinje, pošto za vrijeme interkineze leže obje jezgre opet u prednjem dijelu između makronukleusa i usnog otvora, gdje je prije ležalo vreteno I. mejotske diobe. Nakon druge mejotske diobe nastaju četiri istovjetne gonske jezgre, od kojih u pravilu samo jedna sretno prođe postmejotsku diobu, a produkt su toga stacionarna i migraciona jezgra, dok ostale gonske jezgre u postmejotsku diobu ili ne ulaze ili u njezinu toku propadnu. Ta pojava je bez sumnje posljedica hranidbeno-fizioloških uvjeta. Citoplazma je naime u tom predjelu bogata rezervnim supstancijama, naročito masnim tvarima (osmi- ranje). Njihova raspodjela se može dobro promatrati u živom stanju. Te su rezervne supstancije vjerojatno važne za odvijanje postmejotske mitoze, jer samo ona od četiri gonske jezgre, koja ostaje ležati u tom dijelu citoplazme, uspješno dovršava postmejotsku diobu. Od ostale tri gonske jezgre ostaje tri do šest piknotičkih ostataka, već prema tome, koliko ih je ušlo u postme- jotsku diobu ili je čak prošlo. Ti ostaci nestaju obično već za vrijeme prve metagamne (sinkarijske) diobe. U telofazi postmejotske diobe se rastegne jezgra toliko daleko, da dođe stacionarna jezgra u blizinu makronukleusa, a migraciona jezgra do dodirne plohe između oba individua. Migraciona jezgra razlikuje se vretenastim oblikom i jednostranim debelim slojem homo- gene plazme⁷ od stacionarne jezgre, koja je okrugla i sa svih strana jednako obavijena tankim slojem homogene plazme (sl. 43. a, b). Do kariogamije dolazi po svoj prilici dosta brzo, pošto su se njezini stadiji mogli naći samo vrlo rijetko (sl. 44.). Prva metagamna dioba zbiva se još u prednjem dijelu živo- tinje, druga naprotiv uvijek posve u stražnjem dijelu životinje. U telofazi druge metagamne diobe vretena se protežu od periferije stražnjeg dijela životinje do makronukleusa. Obje jezgre-kćeri, koje se nalaze uz makronukleus, postaju zamecima makronukleusa (placentama), dok jedna od jezgara-kćeri na kraju životinje postane mikronukleus. Do te diferencijacije dolazi još u telofazi te je naročito upadljiva.⁸ U momentu, kada se stvore zameci novog makronukleusa, propada stari makronukleus i konjuganti se rastave. Stari makronukleus postaje kod toga manji, strogo okrugao i homogen, te se u tom stadiju vanredno intenzivno boji, a to je posljedica zgrušavanja i zgušnjavanja hromatičkih struktura.

Naskoro nakon sjedinjenja obiju konjuganata udaljuje se mi- kronukleus od makronukleusa te putuje u prostor između makro- nukleusa i »leđne« strane životinje. Tu se mikronukleus produlji i njegov sadržaj postaje rahliji te dobiva izvjesnu uzdužnu strukturu (sl. 15.), koja postaje sve finija, dok konačno ne izmakne našem zapažanju. U to vrijeme jezgra se još više produljuje (sl. 16.), dok

⁷ Sličnu pojavu opisao je Calkins kod cilijata *Uroleptus hal- seyi* (Calkins 1930.) i *Uroleptus mobilis* (Calkins 1919.).

⁸ Bez sumnje igraju i tu ulogu citoplazmatske diferencijacije u stražnjem dijelu životinje. Analogne pojave istražio je detaljno G. Poljansky (1934.) kod *Bursaria truncatella*.

konačno ne poprimi oblik uskog, dugog, nešto savinutog vretena (srpasti stadij). Pred tim stadijem, za vrijeme tog stadija i poslije njega jezgra je vrlo labilna prema fiksaciji. Njen sadržaj se smežura u uski trak, a ostali prostor ostaje prazan. U živim se životinjama u srpastim stadijima ne može opaziti nikakva struktura. U fiksiranom stanju možemo zamijetiti tragove neke slabe uzdužne strukture. Naročito upadljiva je činjenica, da se smežurani sadržaj jezgara u srpastom stadiju uvijek pričvršćuje na jednom polu uz jezgrinu membranu.

Pošto je »srp« dostigao svoju maksimalnu duljinu (nakon približno 12 sati), počinje se opet stezati. Kod toga postaje jezgra duguljasto vretenasta i pokazuje uzdužno pruganje, koje postaje uvijek očitije, dok konačno ne postaju jasno vidljive niti (sl. 17.). U idućim stadijima niti se skraćuju te daju dojam dvostruke građe. U toku daljeg skraćivanja (sl. 19.) niti se nešto savinu, približe se jezgrinoj periferiji i pojave se jasne figure hromosomnih tetrađa (sl. 20. do 22.), koje pokazuju u optičkim presjecima jasnu dvostruku građu. Oblici hromosomnih tetrađa su vrlo dobro vidljivi (krstu slične, prstenaste hromosomne tetrađe i t. d.). U tom stadiju bili su uvjeti za brojenje hromosoma još najpovoljniji, no kako je zbog bliskog položaja sitnijih tetrađa postojalo svaki put bar jedno optički nejasno mjesto, to je bilo moguće haploidni broj samo ocijeniti na $n \approx 21$. U metakinezi i ranoj metafazi I. mejotske diobe postižu hromosomi maksimum svoje kontrakcije (sl. 23.). U srednjoj i kasnoj metafazi popušta opet kontrakcija i polovice hromosomnih tetrađa spojene su sada samo na svojim mjestima hijazma (sl. 24. do 29.). Metafazna ploča je veoma debela; tetrađe leže razmještene vrlo nejednoliko, djelomično su i koso orijentirane.

Mogu li se tezne niti vretena I. mejotske diobe kod *Colpidium campylum* zaista identificirati s normalnim teznim nitima, problematično je, pošto su vrlo debele i rijetke te su karmin-octenom metodom upadljivo dobro vidljive, što nije slučaj kod normalnih teznih niti.

Rane anafaze nisam našao, međutim sam u više slučajeva promatrao srednje i kasne anafaze (sl. 30. do 32.). U anafazi su kraci tetradnih polovica spojeni samo na mjestu okrenutom prema polu (centromer?!). Pojedini nešto zaostali elementi pokazuju jasno tu normalnu građu dijada anafaze prvog mejotskog koraka. Te slike su bile ponovo zapažane, te se tu ne može raditi o slučaju. Građa dijada u anafazi daje »V« kao i »W« figure, što znači, da postoje u hromosomnoj garnituri jednokraki i dvokraki hromosomi.

U telofazi prvog mejotskog diobenog koraka (sl. 33.) dijade doduše postaju nešto rahlije, ali se uglavnom mnogo ne promijene, kao što je to i slučaj kod normalne interkineze. U stadiju telofaze ili interkineze (sl. 34.) možemo kod *Colpidium campylum* pratiti pojedine hromosomne odsječke bilo sa strane, bilo u optičkom presjeku.

Prometafaza homojotipske diobe nalikuje vrlo »asterstadiju«, što je možda prouzrokovano time, da su dijade poredane još tako, kako su ušle u telofazu heterotipske diobe.

Vreteno homojotipske diobe mnogo je manje od onoga heterotipske. Hromosomi leže gusto i njihova građa ne može se zapažati. Homojotipskih metafaza (sl. 35.) vidio sam razmjerno malo. Kod viših organizama one se odvijaju brzo, a to će biti slučaj i ovdje.

Homojotipske anafaze (sl. 36.) bile su još rjeđe. Kako se dijade vladaju u homojotipskoj diobi nisam mogao utvrditi. Čini se, da se kraci međusobno slijepe, pošto X-figure nisam mogao vidjeti, a figuru u slici 36. u sredini tumačio bih prije kao posljedicu dodirivanja dvaju krakova (možda i slučajnog) već podijeljenih polovina dijade, nego kao dijadu, koja se zaostala nalazi još u metafazi.

Homojotipsku telofazu vidio sam samo jedamput. Gonske jezgre (sl. 37.) imaju jednoliku zrnatu strukturu, koja je sigurno u vezi s hromosomima jezgre. Zrnca su bez sumnje optički presjeci kroz savijene štapiće ili nizove zrnaca. Nerazumljiva je samo njihova debljina.

U postmejotskoj diobi, koju mogu započeti i sve četiri jezgre, u prometafazi (sl. 38.) pojavljuju se hromosomima slični elementi kao duge, tanke niti s izvjesnom hrapavošću. U stadiju metafaze ne mogu se međutim zbog gustog poredaja tih elemenata vidjeti mjesta njihovih zavoja. Iz istog razloga nisam mogao ni pratiti tok rane anafaze, koja je i onako rijetka. Samo u srednjoj anafazi (sl. 39.) bili su nađeni stadiji, koji po izvanjskom izgledu podsjećaju na anafaze normalnih mitozu.

Prva i druga metagamna dioba naročito su zanimljive, jer sačinjavaju postepeni prijelaz od mitoze normalnog izgleda (postmejotske diobe) k maskiranoj somatskoj mitozu. U prvoj i drugoj metagamnoj diobi pojavljuju se tvorevine, koje sigurno nisu pravi hromosomi, i obje diobe se po svom habitusu približuju jako somatskoj mitozu.

Ipak kod opisanog objekta ne možemo očekivati rješenje problema somatske mitoze na osnovi besprikornih dokaza, ako uzmemo u obzir, da je kod tih dioba u mnogo manjem prostoru, nego što je to u heterotipskoj diobi, smješten dvostruki broj hromosoma. Sjetimo li se, da su bili kod heterotipske diobe samo neki stadiji dovoljno jasni, onda od metagamnih dioba zaista ne možemo ništa očekivati, što bi pridonosilo rješenju problema somatske diobe mikronukleusa. Stoga se moramo zadovoljiti samo s kratkim opisom bez sigurne interpretacije.

Sinkarion po svojoj prilici prelazi odmah u »prometafazu« prve metagamne diobe (sl. 45.). Čini se, kao da u produljenoj jezgri leže mnoge tanke niti i stadij podsjeća nešto na »spirem«. Mislim ipak, da se tu radi o »prometafazi« (produljenje jezgara).

Stadije metagamnih dioba, koji su nalik metafazama (sl. 46. i 51.) smatram ranim anafazama, jer su: 1. veoma rijetki, dakle kratko-

trajni, 2. jer su vretena produljena i šiljasta i 3. jer postoji izvjesna simetrija elemenata. U tom stadiju može se bez daljeg zapažati sljepljivanje pojedinih elemenata. Ti stadiji su bez sumnje ekvivalenti somatičke »metafaze«.

Anafaze (sl. 47., 48., 52. i 53.) i telofaze (sl. 49.) metagamnih dioba ne pružaju nam ništa, što bi moglo pridonijeti tumačenju odvijanja maskirane mitoze.

Istraživanje postanka placenti i njihova razvoja u makronukleus bez sumnje bi bilo od velike važnosti, no budući da su pitanja, koja bi trebala biti osnova tim istraživanjima, još otvorena, od toga sam odustao.

2. *Euplotes charon* Ehrbg. (Sl. 56. do 74., tab. III. i IV.)

Euplotes charon pojavio se u jednoj infuziji suhog lišća te se otada redovito nalazio u skoro svim infuzijama. Konjugacije su bile izazvane razrjeđivanjem i povišenjem temperature, no ipak nisu nastale u epidemijama. Istraženi *Euplotes* podudarao se posve sa Steinovim opisom. Po Kahlovom ključu nisam mogao doći do cilja, pošto je on *Euplotes charon* uvrstio među isključivo morske oblike (iako tvrdi, da se s obzirom na ograničenje te vrste posve slaže sa Steinom), te ga je strogo lučio od svih slatkovodnih formi. Oznake ovdje istražene vrste slažu se posve s oznakama, koje navodi Stein za *Euplotes charon*.

Mikronukleus.

Mikronukleus cilijata *Euplotes charon* slabo se boji, naročito u stadijima diobe, tako da se kod promatranja moramo služiti više s razlikama u lomu negoli s razlikama u bojenju.

U interfazi mikronukleus je homogen (sl. 56.), u »profazi« se pojavi vanredno fina struktura, koja se ne da razlučiti. U »prometafazi« (sl. 57.) se pojave slabo obojene niti ili tanki štapići. Stadij »metafaze« nisam mogao naći. Kako je broj pregledanih stadija bio manji nego kod vrste *Colpidium campylum*, ne mogu zaključivati, da taj stadij ne postoji. U »anafazi« (sl. 58.) spomenuti štapići ubrzo se slijepe u homogenu, slabo strukturiranu »anafaznu« ploču. Samo u ranoj »anafazi« može se primijetiti jasna struktura.

Dioba mikronukleusa odvija se strogo sinhrono s diobom makronukleusa. Počinje nakon toga, kad su se reorganizacione ploče pojavile na krajevima makronukleusa, a završava, kada su reorganizacione ploče dospjele do sredine.

Makronukleus.

Dioba makronukleusa odvija se tako, kao što je to opisala i nacrtala Garnjobst kod *Euplotes taylori* (Garnjobst 1937.), samo što u njezinim navodima nisu opisani stadiji maksimalne kontrakcije makronukleusa i komešanja njegova sadržaja (sl. 61.).

Reorganizacijske ploče nisu uvijek posve jednake kod svih indiduumu (sl. 59. i 60.). Svima je zajednički bezbojni sloj, koji distalno prelazi u vrlo sitna zrnca. Ta zrnca u centrifugalnom pravcu postaju sve veća i prelaze u velike grude. Bezbojni sloj graniči proksimalno sa slojem, koji se doimlje kao heterohromatičan i koji postaje za vrijeme putovanja prema sredini — kako se čini — sve deblji. Pošto se makronukleus prekine, dolazi i ovdje do eliminacije hromatina (sl. 62.).

Konjugacija.

Konjugacija se uglavnom odvija, kao što je to navedeno kod *Euplotes taylori* (Garnjobst 1937.). Ovdje ću navesti samo ukratko njezin tok:

Pošto su se životinje spojile, počinje premejska dioba mikronukleusa (bez pojavljivanja reorganizacionih ploča u makronukleusu), čije obje jezgre-ćeri stupaju u I. zriobenu diobu. Rezultat II. zriobene diobe su dakle dva puta četiri gonske jezgre, od kojih šest postaju piknotičke, a dvije uđu u postmejsku diobu, produkt koje su migraciona i stacionarna jezgra te dva piknotska ostatka. Dok se kod vrste *Euplotes taylori* počinje makronukleus deformirati tek poslije izmjene jezgara, kod vrste *Euplotes charon* počinje deformacija makronukleusa već s I. zriobenom diobom. Za vrijeme te diobe nabreknu jako krajevi makronukleusa, dok srednji dio postaje sve tanji i tanji (sl. 71.). Za vrijeme izmjene jezgara već je tako tanak, da postoji samo još kao jedva vidljiva nit ili je dapače već prekinut. Odmah nakon izmjene jezgara životinje se razidu. Ekskonjuganti mogu se lako prepoznati po starom makronukleusu, koji se raspao u dvije okrugle partije, i po golemom mjehurastom zametku novog makronukleusa.

Premejska dioba (sl. 63. do 65.) naliči uglavnom somatskoj mitozu, samo je njezino diobeno vretence mnogo veće. Pomoću premejske diobe možda bi se moglo štogod odgonetnuti i s obzirom na somatsku diobu, ali na žalost nisam imao dovoljno stadija na raspolaganju. Anafaza i telofaza nisam našao i tako ne mogu ništa izreći, kako ulaze obje jezgre-ćeri u profazu I. zriobene diobe. U tom stadiju dolazi do stvaranja »sunaša« (odozgo) ili »srpa« (sa strane), koji se često nejednolike zgruvaju, te su po svoj prilici bar djelomično, ako ne posve, fiksirni artefakti (sl. 66.). U svim tim stadijima mogu se unatoč sitnim dimenzijama prepoznati nitaste strukture. Postoje i stadiji, u kojima je čitav prostor jezgre jednolike ispunjen tankim nitima, koje su poredane u različitim pravcima. Te niti su zapravo nizovi zrnaca te imaju nepravilnu, hrapavu strukturu.

U daljim stadijima pojave se manje ili više jasne hromosomne tetrade, koje poredane na periferiji jezgre stvaraju stadij, koji odgovara dijakinezi (sl. 67.). U metakinezi (sl. 68.) jezgra se nešto spljošti, u metafazi je sa strane gledana opet okrugla. Naravno, nema oblik kugle već rotacijskog elipsoida, kome je glavna os okomita na ravninu, u kojoj je spljoštena životinja, dakle paralelna s optičkom osi mikroskopa, dok se os vretenca podudara s promjerom glavnog kruga.

U metafazi I. zriobene diobe (sl. 69. i 70.) tetrade nisu strogo poredane u jednoj ravnini. Njihove polovine ili više zajedno na

terminaliziranim hijazmama ili su se već potpuno podijelile. Simetrija elemenata može se bez daljega prepoznati. Upadljiva su odebljanja elemenata nalik pucetima. Anafaze sam vidio svega tri puta, a ležale su uvijek optički nepovoljno te su bile stoga neupotrebljive za pomniju analizu.

Već se iz metafaze jasno vidi, da će polovine tetrada, koje vise zajedno na hijazmama, ići svaka svome polu. Anafaze su to potvrdile, ali nije bilo moguće utvrditi, da li kod toga dijade raskreće hromatide. Za vrijeme anafaze je vreteno vrlo široko. Niti vretenca su za vrijeme anafaze kao i za vrijeme metafaze vrlo upadljive i činjenica, da dolaze s karmin-octenom kiselinom tako dobro do izražaja, ne odgovara pravilu te daje dojam, da se tu ne radi o normalnom i tipičnom vretencu. Srednji dio vretenca preostaje kao spojni dio, slično kako su to opisali Prandtl (*Didinium*) i Manwell (*Pleurotricha*).

II. zriobena dioba, postmejotska dioba kao i metagamne diobe bile su samo djelomično istražene zbog nestašice materijala, t. j. pogodnih stadija.

Mogao sam jedino utvrditi, da se već u II. zriobenoj diobi hromosomi počinju sljepljivati i dioba nema više normalni karakter.

Pojedini stadiji poslije II. zriobene diobe prikazani su na sl. 71. do 74.

3. *Oxytricha* sp. i *Stylonichia* sp.

(Sl. 75.—91., tab. IV. i V.)

U infuzijama biljaka *Ranunculus trichophyllus* i *Fontinalis* sp. pojavile su se vrlo često različite oksitrihide. Konjugacije sam, međutim, našao samo dva puta i to odmah na početku svojih istraživanja, kada nisam imao još dovoljno iskustva u fiksiranju i određivanju. Zato sam se morao zadovoljiti oznakama *Oxytricha* sp. i *Stylonichia* sp., što nema utjecaja na rezultate istraživanja.

Stadiji, koje je materijal pružao, ne sačinjavaju kontinuirani niz, već su to samo fragmenti I. mejotske diobe. Budući da su kod nekih oksitrihida promjene u jezgri bile detaljno istraživane, ti su stadiji unatoč nedostajanju kontinuiteta od izvanrednog interesa. Kako se po promjenama na jezgrama obje promatrane vrste spomenutih rodova međusobno bitno ne razlikuju, navesti ću ih zajedno.

Somatska dioba (*Oxytricha* sp.)

Mikronukleus je (normalno su dva, rijetko jedan ili tri) razmjerno izvanredno velik; u stadiju »mirovanja« je homogen i dobro se boji, naročito njegov izvanjski sloj (sl. 75.). Njegova dioba započinje, pošto su se oba reorganizaciona sloja pomakla do unutrašnjih krajeva polovica makronukleusa. Tada se mikronukleus produlji i zadobije strukturu »profaze« (sl. 76.). Iza toga nastaje diferenciranje vrlo pravilnih i kompaktnih štapova (meridijana), koji se dobro bojadišu i koje su dosad smatrali hromosomima (sl. 77.). U to vrijeme

se stope obje polovine makronukleusa. U anafazi putuju štapovi prema polovima, pošto su se prividno uzdužno cijepali (sl. 78. i 79.).

Poslije stapanja obju polovina makronukleusa nastaje, kako se čini, miješanje sadržaja. Nakon toga se makronukleus produlji (mikronukleus je tada u anafazi) i u sredini istanji te prekine.

Kod stilonihije somatska dioba se odvija slično kao kod oksitrihe.

Konjugacija

Oba mikronukleusa uđu u profazu I. zriobene diobe; nastale četiri interkinetske jezgre stupaju dalje u II. zriobenu diobu. Od osam gonskih jezgara postaje šest piknotičkih, a preostale dvije daju migracionu i stacionarnu jezgru te dva piknotička ostatka. Tok konjugacije nalikuju dakle posve na tok kod euplotesa, samo tu otpada premejotska dioba, jer postoje već otprije dvije jezgre, koje mogu ući u profazu I. mejotske diobe. Makronukleus počinje propadati odmah na početku konjugacije. Njegova se prednja polovica po sredini stegne i prekine. Sva tri sastavna dijela makronukleusa postaju vakuolizirana, njegova struktura bude raspršena i djelomično izvučena u niti.

U profazi I. mejotske diobe nastaju stadiji »sunašca« i »pado-brana« (sl. 80.). O njoj se zasada ne može mnogo reći, pošto bi bilo potrebno ispitati, nisu li ti stadiji bar dijelom artefakti fiksiranja.

Pred I. metafazom (pošto se razide »padobran«) susretao sam stadije, u kojima se na elementima, koji su ležali pojedinačno, mogla sa sigurnošću utvrditi njihova dvostruka građa (sl. 81.) te su se mogle naslućivati hromosomne tetrade. U poredbi sa štapovima, koji nastaju u somatskoj diobi mikronukleusa, ti elementi su vrlo maleni i njihov ukupni broj iznosi daleko preko 100, vjerojatno oko 300—400.

U metafazi I. zriobene diobe ti se elementi slijepe i ugrudvaju u posve nepravilne tvorevine, no ipak su pojedini elementi, koji leže sa strane, još uvijek jasno vidljivi (sl. 82. i 84.). Te nepravilne zbirne tvorevine sačinjavaju »metafaznu ploču«, koja je, čini se, s jedne strane ravnija nego s druge. U daljim stadijima mogu se naći izvan ekvatorijalne ploče elementi u obliku bućica⁹, koji su po svoj prilici dijade. Takve bućice su opisali već Gregory (1923.) i Manwell (1928.) te opažali u anafazi njihovo putovanje k polovima. To potvrđuju i moja opažanja, iako sam našao samo kasne anafaze (sl. 83. i 85. do 87.).

Hromosomne tetrade imaju po svoj prilici oblik križića i prstena. Dijade su u formi bućica ili bolje dvostrukih točaka, koje su u stvari optički presjeci kroz dvostruke kuglice ili kroz dvostruke kratke štapiće. Hromosomi će dakle imati u mejozi kuglast ili kratko-štapicačast oblik.

Od II. zriobene diobe nalazio sam samo pojedine stadije, iz kojih se jasno razabire, da se diobe odvijaju maskirano, t. j. da sami hromosomi kod diobe ne učestvuju svojim normalnim načinom, nego se slijepe i slože u zbirne tvorevine (sl. 88. do 91.).

⁹ Misli se na spravu za gimnastičke vježbe o—o.

Složenost tih tvorevina može se vidjeti u pojedinim stadijima II. mejotske diobe, anafazi i telofazi (sl. 89. i 90.).

4. *Chilodonella dentata* Fouqué

(Sl. 92. do 125., tab. V. i VI.)

O cilijatu *Chilodonella dentata* (= *Chilodon uncinatus*) postoje mnoga i opširna istraživanja. Enriquez je (1908.) opisao prvi točno tok konjugacije. Njegova opažanja se od svih prikaza najbolje podudaraju s mojima. Nägler je (1912.) opisao diobu makronukleusa s osobitim obzirom na njegove lokomotoričke komponente. Mac Dougall je (1925.) opisala također tok konjugacije i zriobene fenomene kod jedne diploidne i tetraploidne forme. Njezini podaci se s mojima nikako ne slažu. I u somatskoj diobi i u mejozi opisani su stadiji, koji po mome mišljenju i iskustvu sigurno ne odgovaraju stvarnosti, te se mogu tumačiti kao posljedica pogrešnog seriranja i jednostrane metode.

Chilodonella se pojavila u gotovo svim starim infuzijama, ali rijetko u dovoljnim količinama, a i stadiji konjugacije su bili malobrojni.

Ovdje istražen objekat bio je određen po Kahl ovom ključu kao *Chilodonella dentata* Fouqué 1876. (= *Chilodon curvidens* (ti) s Gruber 1883. = *Chilodon uncinatus* Blochmann-Roux). O nomenklaturi i sistematici vidi Kahl str. 234. i 240.

Somatska dioba

Podatke o somatskoj diobi s obzirom na mikronukleus možemo naći samo kod Mac Dougall o ve. Ali kako se oni s mojim opažanjima nikako ne slažu, to ću ovdje somatsku diobu nešto potanje opisati.

Prije diobe se udalji mikronukleus od makronukleusa te izgubi svoju homogenu strukturu time, što se u njegovoj unutrašnjosti pojavi izrazito pravilna zrnata struktura. Ta zrnca se s karmin-octenom kiselinom dobro boje te su potpuno okrugla (sl. 92.). Pošto je izdiferencirana ta struktura, jezgra se produlji i poprimi vretenast oblik (sl. 93. do 95.). Zrnca, koja su obično bar djelomično poređana u nizove, nestanu, a pojave se 2 do 3 duguljaste nepravilne grude nalik na kobasice (sl. 96. do 101.). Dvije izvanjske sežu obično od pola do pola, a srednja je manja i doseže samo jedan pol. Ipak tu nema nikakvog pravila i u tom stadiju (»prometafazi«) sadržaj jezgre može primiti najrazličitije oblike, pa i broj spomenutih nepravilnih tvorevina (meridijana) je promjenljiv. Kod pornijeg promatranja se može utvrditi, da su dvije kobasicama slične tvorevine često samo optički presjeci kroz jednu jedinu tvorevinu, koja ima oblik šupljeg valjka, a leži tako, da su joj otvori okrenuti prema polovima. Već prema tome, da li je šuplji valjak uzdužno prekinut ili ne, pokazuju te tvorevine, gledane s pola, oblike poput slova C ili slova O.

Taj šuplji valjak ili opisane nepravilne duguljaste grude u daljnjem toku diobe se kontrahiraju, stvarajući stadij »metafaze« (sl. 102.), koji po svoj prilici kratko traje, jer sam ga samo rijetko nalazio, dok sam »profazu« i »prometafazu« nalazio vrlo često.

U »anafazi« (sl. 103. do 106.) prostor je jezgre (vretenca) ispunjen dvjema kalotama. Često se nalaze u svakoj »anafaznoj ploči« još po dvije duguljaste grude, što daje dojam, da su se obje grude »prometafaze« poprijeko dijelile. U kasnoj »anafazi« i ranoj »telofazi« »anafazne« se ploče veoma udalje, kod čega se njihov spojni dio izvuče u tanku nit. U »telofazi« su (sl. 107.) katkada još vidljive dvije duguljaste grude, koje je nacrtala i Mac Dougall, a kasnije se pojavi opet pravično zrnata struktura, koju smo bili već vidjeli u »profazi«.

Promjene u makronukleusu sam samo uzgred promatrao. Ovdje upućujem samo na priložene crteže te ističem dosta sinhroni tok diobe obiju jezgara, t. j. makronukleusa i mikronukleusa. Promjena strukture makronukleusa počinje, kada se mikronukleus nalazi u »metafazi«.

Četiri bućicama slična hromosoma i tok mitoze mikronukleusa, kao što to opisuje Mac Dougall, nisam mogao nikada vidjeti. Protivno tome odgovaraju slike Enriquezove o prvoj metagamnoj diobi, za koju Enriquez sam navodi, da naključje posve somatskoj diobi mikronukleusa, posve mojim opažanjima. Razlika postoji samo u interpretaciji, jer je Enriquez četiri fuba dviju kobasicama sličnih gruda držao za četiri hromosoma.

Konjugacija

I konjugaciju je Enriquez neusporedivo bolje opisao nego njegovi sljedbenici (Mac Dougall, Ivanić) time, što je promjene na jezgrama i u opisu i u crtežima prikazao neusporedivo prirodnije. Međutim, ja nisam mogao naći ni u toj mjeri one pravilnosti, koje navodi Enriquez, te se osjećam primoranim ponovno opisati tok konjugacije u odnosu prema promjeni oblika hromosoma s obzirom na navode literature i vlastita zapažanja.

O »profazi« I. zriobene diobe (sl. 108. do 111.) ne mogu mnogo kazati nego samo to, da sam »srpasti« stadij rijetko našao. Moguće je, da sam materijal prekasno fiksirao ili da taj stadij uopće ne traje dugo. »Srp s karakterističnim vrškom«, kao što ga prikazuje Enriquezova slika, bez sumnje je jak artefakt fiksiranja, te nema nikakve sličnosti sa strukturama »srpastog« stadija. Ivanić i Mac Dougall prikazuju ispravno taj stadij. Mnogo češće nego »srpasti stadij« nalazio sam velike okrugle jezgre sa značajnom strukturom, koju nije bilo moguće optički razlučiti (sl. 108. i 109.). Nije isključeno, da je ta struktura neposredno u vezi s hromosomima ili hromosomskim tetradama. Pojedine figure davale su često taj dojam (sl. 110. i 111.), ali su ipak te tvorevine premalene, da bi se mogle sa sigurnošću analizirati.

U »metafazi« I. zriobene diobe sva su tri autora jednako mogla utvrditi četiri hromosoma, koji se dijele poprijeko i od kojih putuju po četiri polovice k svakome polu. Međutim ja nisam mogao nikada

vidjeti četiri štapića »hromosoma« već uvijek više. Zaista u jednoj ravnini može se ponajčešće naći na četiri, ali ipak uvijek leži još po koji iznad i ispod njih, što se može motrenjem jezgre sa strane bez daljeg utvrditi.

Kod pogleda s pola našao sam najčešće 7 do 15 štapića u optičkom presjeku, ali te brojeve nije bilo moguće smatrati sigurnima, jer je iskustvo pokazalo, da katkada leže 2 do 3 nejednako velika štapića jedan iza drugoga (sl. 112. do 115.). Ta činjenica je bila bez sumnje poznata i spomenutim autorima. Da ne bi povrijedio zakon o konstantnosti hromosoma, Enriquez je pretpostavio, da su se pojedini hromosomi već podijelili, a drugi još ne, a Mac Dougall je opisala jednu »tetraploidnu« formu.

U anafazi I. mejotske diobe prema navodima u literaturi »hromosomi« se dijele poprijeko i isti broj, koji je postojao u metafazi, bude — tobože — dodijeljen svakoj jezgri-kćeri. Po mojim opažanjima, naprotiv, to su vrlo različiti brojevi; broj 4 nisam mogao nikada naći već gotovo uvijek više.

Telofazu (sl. 117. i 118.) prikazala je pravilno Mac Dougall.

U profazi II. mejotske diobe nastaju opet dugi, uski, srpu slični stadiji, koji traju vrlo dugo, kako se čini, pošto se vrlo često nađu. (To mi je sumnjivo!) Oni imaju vrlo pravilnu zrnatu strukturu (sl. 119. i 120.), koja podsjeća veoma na strukturu somatske profaze i telofaze. Četiri reda zrnaca, koje opisuju Mac Dougall i Ivanić, nisam mogao nikada vidjeti. Strogi redovi nisu ni postojali, tako da se tu uopće ništa nije ni moglo brojiti. Ivanić je sam nacrtao više od 4 reda. Mogu se doduše naći stadiji, kod kojih je osnovna supstancija, u kojoj leže zrnca, podijeljena uzdužnom pukotinom tako, da nastaju dvije distinktno tvorevine (usporedi kobasicama slične tvorevine somatske diobe), ali četiri nisam mogao nikada vidjeti.

U »metafazi« II. zriobene diobe (sl. 123.) mogu se naći samo nepravilne tvorevine, koje sastoje od osnovne supstancije, koja se slabo boji, a u njoj leže zrnca ili krupnije tvorevine, koje se jače bojadisu. Četiri skraćena niza zrnaca te hromosome, kao što ih prikazuje Mac Dougall, nisam nikada vidio. Slike od Mac Dougall mi se čine veoma shematizirane i vjerojatno su pogrešno serirane. Čini se, da je iste stadije autorica kasnije ispravno tumačila, što sam na žalost mogao razabrati samo iz referata, pošto mi originalna radnja nije bila pristupačna. Ona navodi, da su hromosomi u II. zriobenoj diobi prekriveni izvjesnim supstancijama, što se posve podudara s mojim opažanjima. »Redukcijska dioba« — misli se na II. mejotsku diobu — odvija se na osnovu podataka u literaturi po Ivaniću, Enriquezu i Mac Dougall bez pojavljivanja pravih hromosoma¹⁰, t. j. prikriveno (Mac Dougall 1936.).

¹⁰ Misli se naravno na nepravilne tvorevine, koje su autori smatrali hromosomima.

Sva tri autora zaključuju na zbivanje redukcije u toj diobi iz stadija treće zriobene diobe, gdje tobože nastaju jasno dva hromosoma. Međutim, ja i tu nisam mogao naći dva hromosoma, već u najboljem slučaju dvije nepravilne tvorevine (sl. 124.). Pored toga ne mogu prešutjeti, da je od dva vretena, koja bi trebala biti po polovici izmijenjena, jedno često vrlo zaostajalo (što navodi i Enriquez) ili je čak postojalo uopće samo jedno.

Metagamna dioba (I. sinkarijska dioba) nalikuje doista — kao što to i opisuje Enriquez — na posve običnu somatsku mitozu. Slike 39., 40. i 62. Mac Dougallove (1925.) odnose se po svoj prilici na otkinute konjugante.

Pošto smo utvrdili spomenute činjenice, možemo zaključiti ovo:

Tvorevine, koje su kod vrste *Chilodonella dentata* (= *Chilodon uncinatus*) dosada bile smatrane hromosomima, nemaju nikakve oznake hromosoma (konstantnost broja, individualitet, uzdužno cijepanje, parenje i t. d.) te ih prema tome ne možemo smatrati hromosomima. One su samo manje ili više slučajne tvorevine neke supstancije, koja sadržava timonukleinsku kiselinu (vjerojatno suvišna matriks hromosoma). Ta supstancija prekriva pravo hromosomsko zbivanje. Strukture, koje bi mogle biti prouzrokovane hromosomskom gradom, pojavljuju se samo u »profazi« i »telofazi« somatske diobe te u »profazi« I. i II. zriobene diobe. Prema tome se ne može o redukcijskim fenomenima kod tog objekta uopće ništa kazati i školski primjer za konstantnost broja hromosoma — *Chilodon* — moramo smatrati zabludom uvjetovanom koje nepotpunim i premalo kritičkim opažanjima, a koje opet tendencijom »htjeti vidjeti hromosome«. Toliko dugo, dok nije dublje riješen problem promjene oblika hromosoma kod cilijata, t. j. dok je mehanizam maskiranih dioba kod cilijata samo hipotetičan, ne će se moći protumačiti ni zriobena dioba kod hilodona. Ako bi se u trećoj zriobenoj diobi redovno pojavljivalo samo jedno normalno diobeno vretence, tada se tu uopće više ne bi mogli očekivati fenomeni zriobe i oplodnje.

PROTOCILIATA (OPALINIDAE)

Kod opalinida je postojanje normalne mitoze i normalnih hromosoma dokazano i iscrpno istraženo kod roda *Zelleriella* (Chen 1932. a, b, 1936. a, b, 1948.).

Uspoređujući rezultate Chenovih istraživanja kod rodova *Zelleriella* i *Protoopalina* s istraživanjima kod rodova *Opalina* i *Cepedea* (Pfitzner 1886., Tönniges 1919. i 1927., Ivanić 1933. c, 1934. a, b i 1936.) došao sam do zaključka, da bi ponovno istraživanje mitoze kod tih rodova (*Opalina*, *Cepedea*) nakon stečenih iskustava kod eucilijata moglo biti od značenja. To se potkrijepilo mišljenjem, da nije vjerojatno, da bi grupe *Protociliata* i *Euciliata* bile odvojene bitnim razlikama u organizaciji jezgre. Izvršena istra-

živanja potvrdila su to mišljenje utoliko, što su pokazala, da postoje i kod opalinida maskirane diobe jezgara. Ujedno se može kod njih način maskiranja donekle bolje upoznati, nego što nam je to bilo moguće kod eucilijata. Iako nemamo strogih dokaza, da se radi kod obiju grupa (protocilijata i eucilijata) o istom načinu maskiranja, ipak postoje indicije, koje govore u prilog toj mogućnosti te je čine vrlo vjerojatnom.

5. *Opalina ranarum* Ehrbg.

(Sl. 126. do 168., tab. VII., VIII. i IX.)

Materijal je bio dobiven iz rektuma žabe *Rana agilis* Thomas¹¹ te odmah fiksiran OsO₄-parom, a zatim 1/2% hromnom kiselinom (na pokrovnom stakalcu) ili alkohol-octenom kiselinom u omjeru 3:1 (u tubi). Fiksirani materijal bio je obrađen Feulgenovom nuklealnom reakcijom ili karmin-octenom kiselinom.

Najprije moram upozoriti na pojavu, koju je pokazivala većina istraženih primjeraka vrste *Opalina ranarum*. Veličina jezgara — bilo u interfazi bilo u diobi — neobično jako je, naime, varirala i to ne samo u različitim individuumima već također u jednom te istom individuumu. Maksimalnu razliku u veličini između jezgara u diobi i interfazi različitih individuumata predočuju nam sl. 143., 148., 160. b i 152., a najveću i najmanju jezgru u jednom te istom individuumu pokazuju sl. 153. a, b i 160. a, b. Tu pojavu možemo protumačiti jedino Neresheimerovim navodima, iz kojih se razabire, da su manje jezgre buduće spolne jezgre, a veće t. zv. »principalne« ili »rezervne« jezgre (Neresheimer 1907.). (Postanak novih jezgara iz »hromidija« i »sporedija« naravno ne možemo potvrditi, kao ni mnoge druge navode.)

Taj »dimorfizam« jezgara za nas je od velike važnosti, pošto se te jezgre ne razlikuju među sobom samo veličinom, već i svojom strukturom ili izgledom, naročito u vrijeme diobe.

Naša opisivanja ćemo započeti na najvećim jezgrama. U interfazi (sl. 126. do 128., 148., 150. i 151.) te jezgre imaju karakterističnu strukturu, koju bi bilo zasada preuranjeno protumačiti. U difuzno raspodijeljenoj slabo Feulgen-pozitivnoj supstanciji nalaze se jače Feulgen-pozitivne točke, koje su vjerojatno optički presjeci kroz nitate tvorevine (sl. 130.), koje se postepeno zgušnjavaju (sl. 131. do 133.) te po svom izgledu posve nalikuju na hromosome (»mikrohromosome« Tönniges). Među njima se nalaze nepravilne tvorevine, koje se donekle boje octenim karminom i koje moramo prema Chenovim istraživanjima nazvati nukleolima (»makro-

¹¹ Mnogo zahvaljujem gdi. prof. dr. V. Fink, što je bila tako ljubezna, da mi je dobavila materijal za istraživanje

hromosomi« Tönniges).¹² U metafazi hromosomi postaju još deblji i kraći, ali se zbog gustog poređaja elemenata ne može sa sigurnošću prepoznati njihov oblik. Do stvaranja ekvatorijalne ploče ne dolazi, već se hromosomi nekoliko primaknu ekvatorijalnoj ravni i to tek toliko, da su polovi diobenog vretenca slobodni. Nukleolarna supstanca je u tom stadiju obično smještena u ekvatorijalnoj ravni na periferiji vretenca ili među masom hromosoma (sl. 134.). Vrlo značajna figura u stadijima profaze i metafaze je svijetli krug s točkom (sl. 134. a); možda je to izvjestan odsječak hromosoma, promijenjen utjecajem odgovarajućeg nukleola. Budući da se hromosomi zbog optički nepovoljnih uvjeta (gusti poređaj hromosoma i nukleola) nisu mogli identificirati, nije bilo ni moguće utvrditi, postoje li veze između nukleola i izvjesnih hromosoma, kao što je to kod rodova *Zelleriella* i *Protoopalina*. Isto tako nije mogao biti dokazan individualitet hromosoma te njihovo uzdužno cijepanje. Pogodni stadiji kod izvanredno velikih jezgara (sl. 143. i 144.), koji bi takva promatranja omogućili, bili su vrlo rijetki. Uspoređujući svoja zapažanja s Chenovim rezultatima, smatram, da ipak nije vjerojatno, da bi unatoč sistematskoj srodnosti opaline i celeriele te vanjskoj sličnosti njihovih mitoza bile prilike kod njihovih jezgara bitno različite. Rane i srednje, pa i kasne anafaze pokazuju gotovo uvijek simetrične figure (sl. 135. do 139., 144.), koje su indicija za anafazno razilaženje hromosoma. U ranoj telofazi (sl. 140.) postaju hromosomi nevidljivi, a nukleoli pokazuju značajan produljeni oblik, čemu je možda uzrok diobeno vretenca. U kasnoj telofazi (sl. 141. i 142.) nukleoli postaju nepravilni, postepeno gube svoje konture i jezgri se vraća njezina struktura interfaze.

Što su manje jezgre, to se teže mogu raspoznati u srednjim stadijima diobe hromosomi i nukleoli (sl. 145. do 147.). U najmanjim jezgrama (sl. 150. do 168.) ne možemo više raspoznati hromosome i nukleole ni Feulgenovom tehnikom. Dioba tih malih spolnih jezgara odvija se dakle bez sumnje maskirano i izgled tih jezgara u diobi vrlo podsjeća na maskirane mitoze mikronukleusa eucilijata. U jezgri se izdiferenciraju neke tvorevine s izvjesnom meridionalnom strukturom (sl. 166. i 168.), koje se u metafazi nekoliko zgusnu u ekvatorijalnom predjelu jezgre, a zatim putuju u dvije grupe svaka prema svome polu. U nekim vretencima možemo u slovu V ili I sličnim nježnim strukturama naslućivati hromosome ili njihove odsječke (sl. 154. do 159.).

¹² Te tvorevine nisu u svim jezgrama jednako dobro vidljive. U nekim stadijima, naročito u anafazama se ne mogu primijetiti (sl. 135., 136., 144.), a čini se, da i u svim jezgrama ta nukleolarna supstancija nije jednako razvijena. U nekim slučajevima može posve prekriti hromosome (sl. 149.).

6. *Cepedea dimidiata* Stein

(Sl. 169. do 181., tab. IX.)

Materijal je bio dobiven iz rektuma žabe *Rana esculenta* L., fiksiran OsO₄-parama i zatim Flemming-Benda smjesom ili alkohol-octenom kiselinom te obrađen Feulgenovim reagensom ili karmin-octenom kiselinom.

Cepedea dimidiata pokazuje u građi jezgara istu sliku kao i *Opalina ranarum*. Maskirane diobe bile su rijetko nađene, a to je razumljivo, ako uzmemo u obzir, da je materijal bio skoro dva mjeseca ranije dobiven i fiksiran nego li materijal opaline. Pripreme za spolno umnožavanje su dakle bile tek djelomično započele. Češće su međutim bili nađeni individuumi, čije jezgre su u veličini već znatno varirale (sl. 169. do 171.).

Normalne diobe cepedeje ne razlikuju se mnogo od onih opaline, što se vidi i iz priloženih crteža (sl. 173. do 181.). Zanimljivo je; da se i tu nukleolarna supstancija u različitim diobama vidi različito jasno (sl. 174. i 175.).

U stadijima rane anafaze možemo primijetiti simetrične hromosomne elemente. Takve sam slike vidao često, što pobuđuje sumnju, da su to doista rane anafaze mitoze (sl. 175. i 176.). U kasnim anafazama mogu se promatrati pojedini zaostali elementi: čini se, da su to dvokraki i jednokraki hromosomi (sl. 177.). Potkraj anafaze (sl. 178.) hromosomi skoro nisu više vidljivi. U ranoj telofazi poprima nukleolarna supstancija izvjesnu nepravilnu uzdužnu strukturu (sl. 179.).

Zanimljiv je izgled jezgara-kćeri u srednjoj telofazi. Tu naime dolazi do torzije struktura vretenca (sl. 180., 181.), a to ukazuje na izvjesnu sličnost s diobama mikronukleusa kod eucilijata.

IV. DISKUSIJA

Ovim istraživanjima pokušao sam riješiti neke od osnovnih problema kariologije cilijata. Kod toga mi je bila glavna misao, da se promjena oblika hromosoma može smatrati dovoljno istraženom tek onda, ako su istraživanja bila proširena na čitav životni ciklus organizma, a ne samo na njegove pojedine odsječke.

A) HROMOSOMI EUCILIJATA

Već prva istraživanja somatskih mitozâ mikronukleusa najobičnijih cilijata potvrdila su mnijenje stečeno kod pregledavanja literature: tvorevine, koje su dosada bile opisivane kao hromosomi, nisu i ne mogu biti hromosomi. One kod nepristranog posmatranja ne nalikuju na hromosome, a osim toga ne pokazuju nikakve osobine značajne za prave hromosome.

Da je ta spoznaja zaista ispravna, postalo je tim jasnije i nepobitnije, kada su kod vrste *Colpidium campylum* u mejotskoj diobi prvi put kod eucilijata mogli biti dokazani pravi hromosomi, koji se tu pojavljuju u svom posve normalnom obliku, te se po svom vladanju u stadijima od kasne profaze I. mejotske diobe pa bar do telofaze II. mejotske diobe bitno nikako ne razlikuju od normalnih hromosoma višestaničnih organizama. Nastajanje hromosomnih tetrada u kasnoj profazi i metafazi I. mejotske diobe te njihov oblik nesumnjivo dokazuju, da postoje ovdje manevri i fenomeni hromosomskog parenja kao kod svih viših organizama. Oblik hromosomskih tetrada podudara se s oblikom kod normalnih hromosoma viših organizama te ukazuje na postojanje hijazmatipije. Nadalje je vanredno važno nastajanje dijada u anafazi s raskrećenim krakovima, a to nam dozvoljava da zaključujemo: 1. postojanje normalnih hromosoma, 2. oblik hromosoma (hromosomi s medijanom i terminalnom insercijom i 3. postojanje mjesta, koje odgovara centromeru hromosoma viših organizama.

Kod *Euplotes charon* možemo u srednjim stadijima I. mejotske diobe naći posve normalne hromosome. I tu nastaju hromosomske tetrade ili parovi dijada, koji u anafazi putuju svojim polovima. U II. mejotskoj diobi, međutim, hromosomi nisu više vidljivi u svom normalnom obliku. Tu pojavu smo nazvali maskiranjem hromosoma, t. j. takve diobe maskiranim diobama.

Kako takve maskirane diobe kod eucilijata nastaju, pokazuje nam donekle mejotska dioba kod oksitrihida. Tu se pojavljuju u I. mejotskoj metafazi hromosomni agregati, u kojima više ne možemo pravo prepoznati pojedine hromosome, ali nam izolirani i zaostali elementi bućicama sličnog oblika, koji leže uz rub i izvan ekvatorijalne ploče, dokazuju, da se i tu zbilo parenje hromosoma, koji su dakako neusporedivo manji od svojih agregata. Hromosomi, kao i njihovi agregati leže u diobenom vretencu poredani jedan iza drugoga. Zbog toga ne dolazi do stvaranja prave metafazne ploče i razilaženje hromosoma nije točno sinhronizirano. Kako se razilaženje hromosoma u anafazi stvarno odvija, nije moguće utvrditi zbog gustog poredaja i velikog broja elemenata. Pojava, da mogu hromosomi ležati u diobenom vretencu jedan iza drugoga, poznata je i kod kokcida (Hughes-Schrader 1940. i Hughes-Schrader and Ris 1941.). Njihovi hromosomi podsjećaju na hromosome cilijata i po svome obliku, koji je vjerojatno posljedica posebnog mehanizma diobenog vretenca (Schrader 1932.). Slične prilike poznate su i kod heteroptera (Schrader 1935., Geitler 1944.). Kod cilijata postoje sva ta odstupanja u povećanoj mjeri.

Pojava maskiranja može, kako smo ranije kod istraženih eucilijata vidjeli, biti proširena i na stadije mejoze. Ekstrem takvog maskiranja postoji kod forme *Chilodonella dentata*, gdje je čitava mejoza maskirana. Jedina struktura, koja bi tu mogla biti direktno hromosomalnog porijekla, jeste pravilno zrnasta struktura, koja se

pojavljuje u »profazi« II. mejotske diobe te »profazi« i »telofazi« somatske diobe, a isto tako i karakteristična struktura u »profazi« I. mejotske diobe.

Ujedno mi je poslužila *Chilodonella dentata*, da kontroliram konstantnost broja tvorevina opisanih kao hromosomi. Pokazalo se, da tu nema nikakve konstantnosti broja te da je broj tih tvorevina obično mnogo veći, nego što je navedeno u literaturi.

B) HROMOSOMI PROTOCILIJATA

Činjenice, koje su dala istraživanja kod eucilijata, ne dadu se jednostavno dovesti u sklad s posve normalnim tokom mitoze opalinida *Zelleriella* i *Protoopalina*. Činilo se nevjerojatnim, da bi jezgre protocilijata bile bitno drugačije grade nego jezgre eucilijata.

Opažanja na mitozama kod opalinida *Cepedea dimidiata* i *Opalina ranarum* potpuno su potvrdila to mišljenje. Nadeni stadiji omogućili su mi, da sam našao obrazac, kojim se mogu zajedno interpretirati prilike kod jezgara opalinida i kod mikronukleusa eucilijata.

»Principalne« i »rezervne« jezgre po svojem načinu diobe i po svojoj građi posve se podudaraju s jezgrama protoopalinida (*Zelleriella*, *Protoopalina*). »Spolne« jezgre, međutim, koje se odvajaju od »principalnih« jezgara, zbog postepenog smanjivanja volumena postaju sve gušće po svojoj strukturi te paralelno s tim pojavama gube karakter normalne mitoze. One su po svom izgledu, a naročito po svom načinu diobe, vrlo slične mikronukleusima pravih cilijata. U tim maskiranim diobama hromosome ne možemo više prepoznati u njihovu normalnom obliku, a iz činjenica dobivenih vlastitim opažanjima nužno izlazi, da u tim diobama hromosomi ni ne mogu sudjelovati u svom normalnom obliku.

C) ZAJEDNIČKE KARAKTERISTIKE JEZGARA PROTOCILIJATA I EUCILIJATA

Usporedimo li naša opažanja na mikronukleusima eucilijata i jezgrama opalinida, onda možemo utvrditi njihove čuće zajedničke osobine:

1. U diobama, gdje je volumen jezgre dovoljno velik (zriobene diobe eucilijata, mitoze »principalnih« i »rezervnih« jezgara opalinida), pojavljuju se posve normalni hromosomi.

2. Postepenim smanjivanjem volumena jezgre (kod eucilijata: postmejotske i metagamne diobe, djelomice i mejotske diobe, kod opalinida: diobe »spolnih« jezgara) dolazi do pojava maskiranja dioba t. j. hromosoma.

3. U diobama, koje nisu maskirane, ne dolazi do stvaranja prave ekvatorijalne ploče, štoviše, hromosomi se poređaju jedan za

drugim. Posljedica je toga, da izostaje stvaranje anafaznih ploča i da dolazi do nesinhronog razilaženja hromatida u anafazi.

4. U maskiranim diobama ne može se utvrditi postojanje nukleolarne supstancije.

D) MASKIRANJE DIOBA

Ako usporedimo kod eucilijata volumen somatskog mikronukleusa (v) s volumenom mikronukleusa u I. mejotskoj fazi (V) ili na pr. kod opalinida volumen spolnih jezgara (v) s volumenom »principalnih« ili »rezervnih« jezgara (V), dolazimo do vrlo zanimljivih omjera. Evo primjera:

	Volumen mikronukleusa u srednjim stadijima somatske mitoze = v :	Volumen mikronukleusa u srednjim stadijima I. mejotske diobe = V :	Omjer $v : V$
<i>Colpidium campylum</i>	23,6 μ^3	307,7 μ^3	1 : 13
<i>Euplotes charon</i>	91,6 μ^3	818,1 μ^3	1 : 9

	Volumen najmanjih jezgara u srednjim stadijima diobe = V :	Volumen najvećih jezgara u srednjim stadijima diobe = V :	Omjer $v : V$
<i>Opalina ranarum</i>	50,3 μ^3	3239 μ^3	1 : 64

Usporedimo li minimalni volumen, koji zauzimaju hromosomi u nemaskiranim diobama (m) s izračunatim volumenima jezgara (V i v) dolazimo do idućih omjera:

	Minimalni volumen hromosoma u srednjim stadijima I. mejotske diobe = m :	$V : m$	$v : m$
<i>Colpidium campylum</i>	5 μ^3	60 : 1	5 : 1
<i>Euplotes charon</i>	5,5 μ^3	148 : 1	17 : 1

	Minimalni volumen hromosoma u srednjim stadijima mitoze »rezervnih« jezgara = m:	V : m	v : m
Opalina ranarum	13 μ^3	249 : 1	4 : 1

Iz poredbe tih brojeva¹³ možemo zaključiti, da izgled jezgre u diobi kod najmanjeg volumena ne može biti jednak izgledu kod najvećeg volumena.

Naročito lijepo nam to potvrđuju opažanja kod vrste *Opalina ranarum*, gdje možemo postepeno posmatrati izgled jezgara u diobi svih veličina, od najveće pa do najmanje. Imamo li na umu količinu nukleolarne supstancije i smjestimo li tu količinu u mislima uz masu hromosoma u volumen najmanje jezgre u srednjem stadiju diobe, onda nam postaje jasno, da na tom skučenom prostoru mora doći do gužve, u kojoj hromosomi i nukleoli ne mogu obaviti diobu na normalan način.

E) NERIJEŠENI I NOVI PROBLEMI

Jedan od glavnih neriješenih problema bez sumnje je način maskiranja hromosoma ili dioba. Na osnovi dosad poznatih činjenica nemamo razloga da posumnjamo u individualitet i kontinuitet hromosoma za vrijeme maskiranih dioba. U svom normalnom obliku hromosomi u maskiranim diobama svakako ne postoje, ali to ne povlači sa sobom kao nužnu posljedicu, da je time okrnjen njihov individualitet i kontinuitet. Bit hromosoma nije njegov oblik u srednjim stadijima diobe već hromonema s uzdužnom diferencijacijom, a ta postoji i u jezgri, koja se ne dijeli. Teško možemo zamisliti, da bi hromosomi u maskiranim diobama bili principijelno drugačije spiralizirani nego u normalnim diobama. To zamišljamo tim teže, što i kod eucilijata i kod opalinića svagdje postoje postepeni prelazi od normalne diobe k maskiranoj. Ukoliko bi i građa hromosoma u maskiranim diobama bila zaista bitno drugačija nego li u normalnim diobama, onda bi se ta građa morala dati ipak bar postepeno izvesti od normalne građe, jer inače ne bi mogli protumačiti postepenost prelaza od normalne diobe k maskiranoj.

¹³ Ti su brojevi izračunati iz stadija, koji su prikazani na sl. 3., 24., 57., 70., 143. i 153. a. Naravno, mjerenja su samo približna, no ipak nam daju izvjestan oslonac. Minimalni volumen hromosoma m vjerovatno je svagdje znatno prenižak. Ako bi dakle mogli griješke u mjerenju ispraviti, rezultati bi se promijenili jedino u korist naših zaključaka.

Opazanja na opalinidama daju dojam, da su u maskiranim diobama hromosomi mnogo manji (sl. 154. do 159.) i da tu dolazi do najtješnjeg zgušnjavanja između hromatina te nukleolarne supstancije, čime i tumačim činjenicu, da se nukleolarna supstancija i u Feulgen-preparatima nije mogla razlučiti od hromosoma. Da kod opalinida postoji izvjesna tendencija »impregniranja« hromosoma s nukleolarnom supstancijom, pokazuju istraživanja kod nekih vrsta roda *Zelleriella* (Chen 1948.), gdje dolazi do ulaganja nukleolarne supstancije čak u hromosomu (»puffed regions«). Na žalost, ti stadiji nisu još bili ispitani Feulgenovom nuklealnom reakcijom. Vrlo je vjerovatno, da će tu biti nukleoli prividno Feulgen-pozitivni, zbog Feulgen-pozitivne matriks, koja ih po svoj prilici prekriva. Takva činjenica bi još više opravdala mišljenje, da je za maskiranje hromosoma ili dioba veoma važno miješanje nukleolarne supstancije s Feulgen-pozitivnom i možda suvišnom matriks.

Takvi slučajevi, gdje dolazi do intimnog sjedinjenja hromosoma s nukleolarnom supstancijom, poznati su i kod drugih organizama, na pr. kod alge *Spirogyra*, pa se u nekim slučajevima i stadijima ni Feulgenovom nuklealnom reakcijom ne mogu razlučiti hromosomi od nuklealne tvari (Geitler 1934., 1935.).

Sjetimo li se sada činjenice, da kod pravih cilijata u mikronukleusu za vrijeme somatske mitoze, t. j. za vrijeme maskiranih dioba nema traga distinktnoj nukleolarnoj supstanciji, onda nam se nameće sama od sebe ideja, da će i kod stvaranja kobasicama sličnih hromosomnih agregata vrlo vjerovatno sudjelovati nukleolarna supstancija. Indicije za pravilnost tog mišljenja su također stadiji, gdje nalazimo u hromosomnim agregatima somatske mitoze mikronukleusa jače obojene strukture veličine mejotskih hromosoma (na pr. kod nekih oksitrihida). Oblik tih hromosomnih agregata nastaje bez sumnje djelovanjem mehanizma vrtena. Tordiranje u stadijima telofaze somatske diobe mikronukleusa i u stadijima telofaze diobe jezgara kod cepedeje govore također tome u prilog.

Sam mehanizam diobenog vretenca problem je za sebe. Nesinhrono razilaženje hromatida te izvanredno debele niti vretenca ukazuju na to, da taj mehanizam prilično odstupa od građe diobenog vretenca viših organizama. Vladanje diobenog vretenca t. j. njegova funkcija u maskiranim diobama, zasada je posve nepoznato.

F) DIMORFIZAM JEZGARA KOD OPALINIDA (?)

Iako to pitanje ne pristaje direktno u okvir ove radnje, ipak ću se uzgred kratko na njega osvrnuti, budući da sam kod svojih istraživanja upoznao neke činjenice, koje potvrđuju Neresheimerovo gledište i koje mi omogućuju da Neresheimerova izlaganja nadopunim (Neresheimer 1907.).

Činjenica, da opal'nide nemaju razvijen dimorfizam jezgara, predstavlja višestruki problem. Mnogi su autori nastojali, da pronađu shodno tumačenje. Neki su htjeli pronaći komponentu makronukleusa u »makrohromosomima« (u stvari nukleolima) (Töniges), drugi su opet zamjenjivali plazmatska tjelešca s jezgrama i shvaćali ih kao razdijeljeni makronukleus (Konsuloff, Ivanić).

Neresheimer je (1907.) smatrao, da makronukleusu odgovaraju t. zv. »rezervne« jezgre, koje analogno njemu i pripadaju, dok kod stvaranja gameta sudjeluju »spolne« jezgre.

Toj analogiji, koju je postavio Neresheimer (vidi str. 15. njegove radnje), dodao bih iz vlastitih opažanja još ovo:

Osim po svojoj sudbini (tu se oslanjam na opažanja Neresheimerova, koja bi svakako morala biti još potvrđena) male i velike jezgre kod vrste *Opalina ranarum* i po svom izgledu podsjećaju na mikronukleus i osnovu makronukleusa (placentu). Prema tome agamogeni individuumi opaline odgovarali bi po svom homokariotskom stanju kao i po fazi te razvojnog ciklusu jezgre donekle ekskonjugantima eucilijata, koji su za vrijeme postojanja sinkariona i njegovih dioba također homokariotski, ako uzmemo u obzir, da je tada u većini slučajeva makronukleus već zapao piknozi. Ta izvjesna analogija dimorfizma, faze u razvojnog ciklusa jezgre između eucilijata i opaline prikazana je na shemi (sl. I. u tekstu):

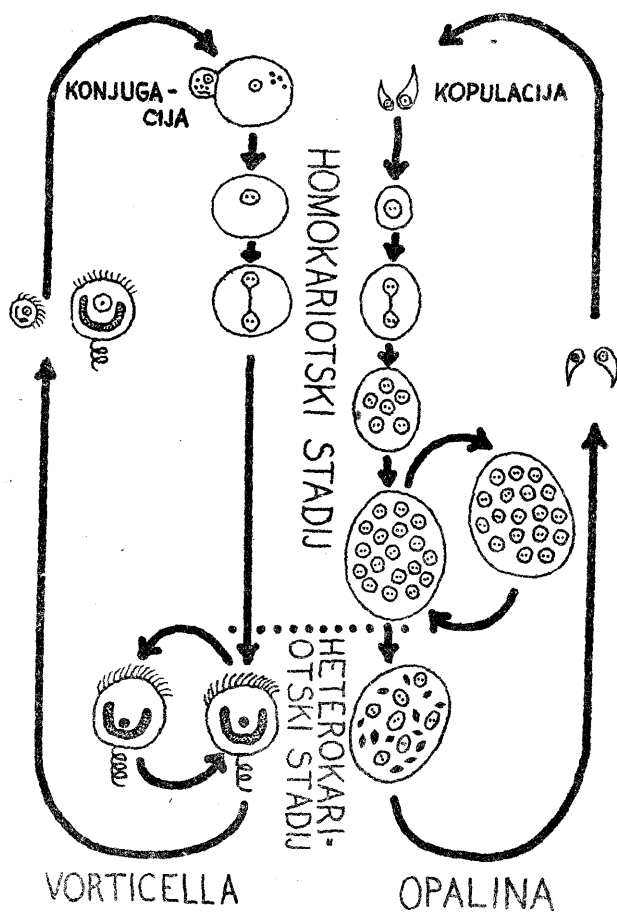
Razlike između opaline i eucilijata s obzirom na dimorfizam jezgara bile bi ove:

1. Opalina proživljava vegetativni ciklus života na homokariotskom stadiju, eucilijati međutim na heterokariotskom (ipak ne svi!).

2. Kod opaline vjerojatno ne dolazi do poliploidiziranja »rezervnih« jezgara, kao što je to gotovo sigurno slučaj kod makronukleusa pravih cilijata. — Endopoliploidiju makronukleusa dokazao je nesumnjivo Grell kod suktorije *Ephelota gemmipara* (Grell 1949.).

To gledište bi učinilo razumljivom i pojavu »ekstrukcije« hromatina, koju su opisali mnogi autori (Loewenthal 1904., Neresheimer 1907., Metcalf 1909.). Poznato je naime, da dolazi do slične »ekstrukcije« ili »eliminiranja« hromatina kod mnogih makronukleusa cilijata (vidi opis diobe makronukleusa kod cilijata *Colpidium campylum*), pa bi bilo razumljivo, da ona nastaje i kod opalinida kod jezgara, koje su analogne makronukleusu. Tu pojavu »ekstrukcije« hromatina kod istraženih opalinida u svom toku sâm nisam mogao primijetiti, no često sam našao u plazmi hromatinske grude, koje bi mogle stvarno biti u vezi sa spomenutom pojavom.

Naravno, sve je to samo hipoteza — možda i preslabo osnovana — ali sam je naveo iz osvjedočenja, da bi mogla biti plodna kao putokaz za buduća istraživanja. Jedino dublje poznavanje promjena jezgara u vrijeme spolnog umnožavanja kod opalinida i nekih



Sl. 1.

pravih cilijata, koji nemaju razvijen dimorfizam jezgara (*Stephanopogon Mesnili*, *Blepharostoma* sp., *Euchelys* sp.) moći će nam dati zadovoljavajući odgovor.

V. SADRŽAJ I ZAKLJUČCI

Na osnovi dosadašnjih istraživanja nije bilo moguće protumačiti promjene oblika hromosoma mikronukleusa pravih cilijata (Euciliata). Čak ni na pitanje, što je zapravo kod eucilijata hromosom, nije se moglo odgovoriti. Tok mejoze i mitoze bio je također nejasan. Nikakvo parenje hromosoma nije moglo biti dokazano, nikakve hromosomne tetrade nisu bile poznate; čudne promjene brojeva hromosoma te njihova oblika i veličine kao i njihovo poprečno dijeljenje nisu se dali dovesti u sklad s gledištima moderne citologije.

Rezultati vlastitih istraživanja daju rješenju tih problema ove prinose:

Kod vrste *Colpidium campylum* dokazano je posve normalno odvijanje mejoze, kod koje dolazi u heterotipskoj diobi do parenja hromosoma, do stvaranja hromosomskih tetrada te hijazmatipije, do podjele dijada na jezgre-kćeri te do »raskrećenja« hromatida, koje ostaju udružene na mjestu analognom centromeru. Odvijanje homotipske diobe je također normalno. Postmejotska dioba, metagamne diobe te somatske mitoze su naprotiv maskirane, t. j. hromosomi se ne mogu više prepoznati kao takvi u svom normalnom vladanju. Oblik hromosoma u mejozi je vrpčast. Dulji ili kraći vrpčasti hromosomi imaju medijanu ili terminalnu inserciju. Maskiranje hromosoma raste postepeno od postmejotske diobe te dostigne svoj maksimum u somatskoj mitози.

Kod vrste *Euplotes charon* heterotipska dioba se odvija posve normalno: dolazi do stvaranja hromosomskih tetrada, hijazmatipije i do razilaženja dijada u anafazi. Da li dijade u anafazi raskreće krakove hromatida, nije bilo moguće utvrditi. Sve ostale diobe odvijaju se maskirano. Oblik hromosoma u I. mejotskoj diobi je dulje ili kraće štapičast.

Kod roda *Oxytricha* i *Stylonichia* odvija se heterotipska dioba samo djelomice normalno. U metafazi dolazi do sljepljivanja tetrada u grudaste tvorevine (početak maskiranja). U anafazi može se unatoč tome utvrditi prisutnost dijada (bućicama slični elementi). Oblik hromosoma u I. mejotskoj diobi: vrlo kratki štapići ili kuglice. Sve ostale diobe su posve maskirane. U somatskoj diobi pojavljuju se tvorevine poput štapova, bez sumnje hromosomski agregati.

Kod vrste *Chilodonella dentata* su pored somatske diobe maskirane i sve diobe za vrijeme konjugacije. Samo u »profazama« i »telofazama« nastaju pravilne strukture, koje su vjerojatno u direktnoj vezi s pravim hromosomima. Tvorevine, koje su u »metafazama« bile smatrane hromosomima (Enriquez, MacDougall,

Ivanić), posve su slučajne tvorevine po obliku i po broju, bilo u mejotskim, bilo u ostalim diobama. Nikada nije mogla biti utvrđena nikakva konstantnost broja tih tvorevina.

Kod protocilijata *Opalina ranarum* i *Cepedea dimidiata* nađene su mitoze, koje posve odgovaraju mitozama celeriele. Individualitet hromosoma te njihovo uzdužno cijepanje nije doduše moglo biti direktno dokazano, no usporedba s celerijelom jasno ukazuje na to, da se radi o jezgrama istog tipa. Osim tih normalnih jezgara bile su nađene kod vrste *Opalina ranarum* i jezgre, čija se dioba odvija maskirano te mnogo sliče mikronukleusu pravih cilijata. To su prema Neresheimerovim navodima spolne jezgre (Neresheimer 1907.), koje dakle i po svojoj funkciji odgovaraju mikronukleusu eucilijata.

Rezultati, koje su dala istraživanja na opalinidama (*Opalina ranarum* i *Cepedea dimidiata*) važni su zbog toga, što nam pokazuju vezu između ekstremnih tipova u grupi cilijata, t. j. između krajnje komplicirano građenih mikronukleusa eucilijata i gotovo normalno građenih jezgara protocilijata *Zelleriella* i *Protoopalina*. Kod istraživanih opalinida postoji naime kao i kod eucilijata osim maskiranja dioba još i nesinhrono razilaženje hromatida u anafazi te odsutnost metafaznih i anafaznih ploča. Inače nemaskirane diobe jezgara tih opalinida pokazuju veliku sličnost s diobama jezgara roda *Zelleriella*, pošto i tu postoje perzistentni nukleoli vezani na hromosome.

Primijenimo li dobivene rezultate na opću kariologiju eucilijata i opalinida, možemo zaključno reći ovo:

Euciliata:

»Hromosomi« eucilijata u dosadašnjoj literaturi nisu i ne mogu biti hromosomi, već su to hromosomski agregati (ali ne zbirni hromosomi!), poprečno dijeljenje kojih, ukoliko se zbiva, te nestalnost oblika i broja ne predstavljaju nikakav problem, koji bi bio u surotnosti s gledištima suvremene kariologije.

Pravi hromosomi su vidljivi uglavnom samo za vrijeme mejoze. Tada pokazuju manje ili više normalno vladanje time, što se pare, što stvaraju tetrade s hijazmama i što vise u metafazi zajedno kao dijade samo na hijazmama, te se na njima odijele (prividno poprečno dijeljenje kod nedovoljnog promatranja). Maskiranje somatskih mitoz, metagamnih dioba te postmejojske mitoze može prijeći i na mejojske diobe.

Polazna točka za razumijevanje svih dioba je mejoza. Tek nakon ispravnog shvaćanja mejoze moguće je interpretirati somatsku mitozu mikronukleusa. Postmejojska dioba i metagamne diobe pokazuju kod nekih vrsta postepene prijelaze između manje ili više normalne mejoze te ekstremno maskirane mitoze.

Protociliata (Opalinidae):

Kod opalinida postoje osim jezgara s posve normalnim diobama i hromosomima («principalne» i «rezervne» jezgre) i jezgre, kod kojih zbog smanjenog volumena dolazi do maskiranja dioba i hromosoma («spolne jezgre»). Te spolne jezgre po svom načinu diobe i po svojoj sudbini (Neresheimer 1907.) odgovaraju mikronukleusu eucilijata.

Ta je činjenica važna, jer nam čini razumljivom vezu između karioloških prilika kod protoopalinida (*Zelleriella*, *Protoopalina* — Chen 1948.) i kod eucilijata, a ujedno ukazuje na privremeno postojanje dimorfizma jezgara kod opalinida. U tom smislu upotpunjeno Neresheimerovo gledište smatra se za važno kao smjernica u budućim istraživanjima.

POPIS LITERATURE

Bělař, K.: Der Formwechsel der Protistenkerne. Erg. u. Fortschr. Zool. 6, (1926).

Calkins, G. N.: *Uroleptus mobilis*, Engelm. I. History of the nuclei during division and conjugation. J. exp. Zool. 27 (1919).

Calkins, G. N.: *Uroleptus Halseyi* Calkins. III. The Kinetic Elements and the Micronucleus. Arch. Protok. 72 (1930).

Calkins, G. N. and Summers, F. M.: Protozoa in biological research. Columbia University Press (1941).

Chen, T. T.: Nuclear structure and mitosis in *Zelleriella* (Opalinidae) The Collecting Net, vol. 7 (1932 a).

Chen, T. T.: Nuclear structure, mitosis and chromosome individuality in an opalinid (Protozoa, Ciliata). Anat. Rec., vol. 54, suppl. abstr. 98 (1932 b).

Chen, T. T.: Observations on Mitosis in Opalinids (Protozoa, Ciliata). I. Behavior and individuality of chromosomes and their significance. Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 22 (1936 a).

Chen, T. T.: Observations on mitosis in opalinids. II. The association of chromosomes and nucleoli. Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 22 (1936 b).

Chen, T. T.: Chromosomes in Opalinidae (Protozoa, Ciliata) with special reference to their behavior, morphology, individuality, diploidy, haploidy and association with nucleoli. J. Morph. 83 (1948).

Devidé, Z. and Geitler, L.: Die Chromosomen der Ciliaten, Chromosoma 3 (1947).

Eksemplarskaja, E. V.: Morphologie und Cytologie von *Anoplophrya* sp. aus dem Regenwurmndarm. Arch. Protok. 73 (1931).

Enriquez, P.: Die Conjugation und sexuelle Differenzierung der Infusorien. Arch. Protok. 12 (1908).

Garnjobst, L.: A comparative Study of Protoplasmatic Reorganisation in Two Hypotrichous Ciliates, *Stylonethes sterkii* and *Euplotes taylori*, with special reference to cystement. Arch. Protok. 89 (1937).

Geitler, L.: Neue Untersuchungen über die Mitose von *Spirogyra*. Arch. Protok. 85 (1934).

Geitler, L.: Untersuchungen über den Kernbau von Spirogyra mittels Feulgens Nuklealfärbung. Ber. dtsch. Bot. Ges. 53 (1935).

Geitler, L.: Die Entstehung der polyploiden Somakerne der Heteropteren durch Chromosomenteilung ohne Kernteilung. Chromosoma 1 (1939 a).

Geitler, L.: Das Heterochromatin der Geschlechtschromosomen bei Heteropteren. Chromosoma 1 (1939 b).

Geitler, L.: Neue Untersuchungen über Bau und Wachstum des Zellkerns in Geweben. Naturwiss. 28 (1940 a).

Geitler, L.: Neue Ergebnisse und Probleme auf dem Gebiet des Chromosomenbaus. Naturwiss. 28 (1940 b).

Geitler, L.: Zur Kenntnis des Kern- und Chromosomenbaus bei Heuschrecken und Wanzen. Chromosoma 2 (1944).

Gregory, L. H.: The conjugation of Oxytricha fallax. J. Morph. 37 (1923).

Grell, K. G.: Die Entwicklung der Makronucleusanlage im Exkonjuganten von Ephelota gemmipara R. Hertwig. Biol. Zbl. 68 (1949).

Haas, G.: Beiträge zur Kenntnis der Cytologie von Ichthyophthirius multifiliis Fouq. Arch. Protok. 81 (1938).

Hughes-Schrader, Sally: The meiotic Chromosomes of the male Llaveiella taenechina Morrison (Coccidae) and the question of the tertiary split. J. exper. Zool. 78 (1940).

Hughes-Schrader and H. Ris.: The diffuse spindle attachment of Coccids, verified by the mitotic behavior of induced chromosome fragments. J. exper. Zool. 87 (1941).

Ivanić, M.: Über die promitotische Teilung des Synkarions der Exkonjuganten von Chilodon cucullus. Arch. Protok. 49 (1924).

Ivanić, M.: Über die mit den parthenogenetischen Reorganisationsprozessen des Kernapparates verbundenen Vermehrungscysten von Chilodon uncinatus Ehrbg. Zugleich ein Beitrag zur Kenntnis der promitotischen Kernteilung bei Infusorien. Arch. Protok. 61 (1928).

Ivanić, M.: Die Konjugation von Chilodon cucullus. Arch. Protok. 79 (1933 a).

Ivanić, M.: Neue Beiträge zur Kenntnis der mit Reorganisationsprozessen des Kernapparates verbundenen Vermehrungsruhestadien von Chilodon uncinatus Ehrbg., nebst einem neuen Beitrag zur Kenntnis der promitotischen Teilung des Grosskernes bei Infusorien. Arch. Protok. 79 (1933 b).

Ivanić, M.: Zur Aufklärung der Kernverhältnisse und der Kernteilung bei der im Enddarme der gemeinen Erdkröte (Bufo vulgaris) lebenden Opaline, Cepedea dimidiata. Arch. Protok. 80 (1933 c).

Ivanić, M.: Ein neuer Beweis für die Kernnatur der sog. »scheibenförmigen Körperchen« bei Opalinen. Zool. Anz., vol. 107 (1934 a).

Ivanić, M.: Ein Beitrag zur Kenntnis der im Enddarme des Laubfrosches (Hyla arborea L.) lebenden Opalina, Opalina obtrigona Stein. Zool. Anz., vol. 107 (1934 b).

Ivanić, M.: Über das Vorkommen des »Sichelstadiums« bei den mit den parthenogenetischen Reorganisationsprozessen des Kernapparates verbundenen Vermehrungsruhestadien von Chilodon uncinatus Ehrbg. und dessen Bedeutung. Arch. Protok. 85 (1935).

Ivanić, M.: Die Kernteilung bei Opalina ranarum Stein und Opalina obtrigona Stein. Arch. Protok. 87 (1936 a).

Ivanić, M.: Zur Kenntnis der Vermehrungsruhestadien bei Chilodon uncinatus Ehrbg. Arch. Protok. 87 (1936 b).

Ivanić, M.: Über die mit der Chromosomenbildung verbundene promitotische Grosskernteilung bei den Vermehrungsruhestadien von Chilodon uncinatus Ehrbg. Arch. Protok. 91 (1938).

Kahl, A.: Wimpertiere oder Ciliata. In Dahl »Die Tierwelt Deutschlands« Jena (1930—35).

Kidder, G. W. and W. F. Diller: Observation on the binary fission of four species of common free-living ciliates, with special reference to the macronuclear chromatin. *Biol. Bull.* 67 (1934).

Konsuloff, S.: Untersuchungen über *Opalina*. *Arch. Protk.* 44 (1922).

Konsuloff, S.: Haben die *Opaliniden* zwei Kernarten wie die anderen Infusorien? *Arch. Protk.* 71 (1930).

Konsuloff, S.: Über die Färbbarkeit der Kerne der Infusorien aus der Familie der *Opalinen* in Zusammenhang mit der Bedeutung der Feulgen's mikrochemischen Reaktion. *Arch. Protk.* 73 (1931).

Loewenthal, W.: Das Auftreten eines Mikronukleus-artigen Gebildes bei *Opalina ranarum*. *Arch. Protk.* 3 (1904).

Mac Dougall, Mary, St.: Cytological Observations on *Gymnostomatous Ciliates* with a Description of the Maturation Phenomena in Diploid and Tetraploid Forms of *Chilodon uncinatus*. *Quart. J. Micr. Sci.* 69 Part III (1925).

Mac Dougall, Mary, St.: Cytological studies of the genus *Chilodonella* Strand, 1926 (*Chilodon* Ehrbg. 1838). The conjugation of *Chilodonella* sp. *Arch. Protk.* 84 (1935).

Mac Dougall, Mary, St.: Étude cytologique de trois espèces du genre *Chilodonella* Strand. Morphologie, conjugaison, reorganisation. *Bull. biol.* 70 (1936).

Manwell, R. D.: Conjugation, Division and Encystement in *Pleurotricha lanceolata*. *Biol. Bull.* 54 (1928).

Metcalf, M. M.: *Opalina*, its anatomy and reproduction, with a description of infection experiments, and a chromological review of the literature. *Arch. Protk.* 13 (1909).

Metcalf, M. M.: The *opalinid* ciliate infusorians. *U. S. Nat. Mus. Bull.* 120 (1923).

Metcalf, M. M.: Further studies on the *opalinid* ciliate infusorians and their hosts. *Proceedings of the United States National Museum* 87, Washington (1940).

Mulsoy, W.: Die Conjugation von *Stentor coerules* und *Stentor polymorphus*. *Arch. Protk.* 28 (1913).

Nägler, K.: Caryosom u. Centriol beim Teilungsvorgang von *Chilodon uncinatus*. *Arch. Protk.* 24 (1912).

Neresheimer, E.: Die Fortpflanzung der *Opalinen*. *Arch. Protk. Suppl.* 1 (1907 a).

Noland, L. E.: Conjugation in the ciliate *Metopus sigmoides* C. and L. *J. Morph. Phys.* 44 (1927).

Pfitzner, W.: Zur Kenntnis der Kernteilung bei den Protozoen. *Morph. Jahrb.* 11 (1886).

Piekarski, G.: Cytologische Untersuchungen an einem normalen und einem mikronukleuslosen Stamm von *Colpoda steini* Maupas. *Arch. Protk.* 92 (1939).

Piekarski, G.: Endomitose beim Grosskern der Ziliaten? *Biol. Zbl.* 61 (1941).

Poljansky, G.: Die Conjugation von *Dogielella sphaerii*. *Arch. Protk.* 53 (1926).

Poljansky, G.: Geschlechtsprozesse bei *Bursaria truncatella* O. F. Müll. *Arch. Protk.* 81 (1934).

Prandtl, H.: Die Konjugation von *Didinium nasutum*. *Arch. Protk.* 7 (1906).

Raabe, H.: Aparat jadrowy *Urostyla grandis* Ehrbg. I. Aparat jadra męskiego. *Ann. Univ. Mariae Curie-Skłodowska Sect. C. Biol.* 1 (1) — (1946).

Schrader, F.: Recent hypotheses on the structure of spindles in the light of certain observations in Hemiptera. *Z. wiss. Zool.* 142 (1932).

Schrader, F.: Notes on the Mitotic Behavior of long Chromosomes. *Cytologia* 6 (1935).

Stein, F.: Der Organismus der Infusionsthier. I. Abtheilung. Allgemeiner Theil und Naturgeschichte der hypotrichen Infusionsthier. Leipzig, 1859.

Stevens, N. M.: The Chromosomes and Conjugation in *Boveria subcylindrica*, var. *concharum*. Arch. Protok. 20 (1910).

Tönniges C.: Weitere Mittheilungen über die feineren Bauverhältnisse und über die Fortpflanzung von *Opalina ranarum*. Sitz. Ber. d. Ges. z. Beförd. d. ges. Naturw., Marburg, 6, 1919.

Tönniges, C.: Die Karyokinese von *Opalina ranarum*. Sitz. Ber. Ges. Beförd. d. ges. Naturw. zu Marburg, 62 (1927).

Turner, J. P.: Division and conjugation in *Euplotes patella* Ehrbg. with special reference to the nucleus phenomena. Univ. Cal. Publ. Zool. 33 (1930).

Valkanov, A.: Die Kernverhältnisse der Opaliniden. Arch. Protok. 83 (1934).

Wetzel, A.: Vergleichend cytologische Untersuchungen an Ciliaten. Arch. Protok. 51 (1925).

Weyer, G.: Untersuchungen über die Morphologie und Physiologie des Formwechsels von *Gastrostyla steinii*. Arch. Protok. 71 (1930).

TUMAČ TABLAMA

Napomene: Za slike, kojima je uz broj zvjezdica, vrijedi (veće) mjerilo označeno zvjezdicom. Sve slike, koje nemaju posebne podatke o tehnici, izrađene su po karmin- ostenim preparatima.

TABLA I.

Sl. 1.—14. *Colpidium campylum*, mikronukleus i makronukleus u somatskoj diobi.

1. Mikronukleus u interfazi.
2. Početak »profaze« mikronukleusa. Makronukleus pokazuje jednoliku finu strukturu.
- 3.—4. Mikronukleus u »prometafazi«.
5. Mikronukleus u »metafazi«. Struktura makronukleusa postala je grublja i u sredini se pojavila homogena hromatinska masa.
6. Srednja »anafaza« mikronukleusa.
- 7.—8. Kasna »anafaza«.
9. »Telofaza«.
10. Makronukleus se nakon završene diobe mikronukleusa počinje produljivati.
11. Produljivanje makronukleusa je završeno; hromatinska masa u sredini oblikovala je ploču.
12. Makronukleus se istanjuje. U blizini istanjenog mjesta pojavilo se sa svake strane kuglasto odebjanje.
13. Nakon diobe životinje kuglasto odebjanje je odbačeno u plazmu (»eliminiranje« hromatina).
14. Makronukleus nakon diobe poprima opet okrugao nepravilan oblik. Eliminirani hromatin se zgrušao u tvorevinu sličnu mikronukleusu (leži u slici iznad mikronukleusa).

TABLA II.

Sl. 15.—42. *Colpidium campylum*; zriobene diobe mikronukleusa.

15. Početak I. mejotske profaze.
16. Srpasti stadij prije maksimalnog rastezanja.
17. Stadij nakon stezanja srpa. Pojavile su se nitaste tvorevine.
18. Dalje stezanje mikronukleusa. Nitaste tvorevine u jezgri postaju kraće i deblje.

19. Stadij prije dijakineze. Niti se raspadaju na manje tvorevine.
- 20.—22. Stadij dijakineze. Jasno vidljive hromosomne tetrade poredane su na periferiji jezgre.
23. Metakineza. Hromosomi su maksimalno kontrahirani.
- 24.—27. Metafaza I. mejotske diobe (sa strane). Dvostruka građa hromosomnih elemenata ili oblici tetrada jasno se raspoznaju.
- 28.—29. Metafaza I. mejotske diobe gledana s pola.
30. Srednja anafaza. Dijade su raskrečile krakove hromatida («W» i «V» figure).
- 31.—32. Kasna anafaza. I tu se mogu vidjeti još «W» i «V» figure.
33. Telofaza I. mejotske diobe.
34. Jezgre u interkinezi. Točke su optički presjeci kroz pojedine dijelove hromosoma.
35. Metafaza II. mejotske diobe.
36. Anafaza II. mejotske diobe.
37. Četiri gonske jezgre iz jednog konjuganta.
38. »Prometafaza« postmejske diobe. Hromosomi se pojavljuju već kao agregati u obliku dugih hrapavih niti.
39. »Srednja anafaza« postmejske diobe.
40. »Kasna anafaza« postmejske diobe.
- 41.—42. Rana i kasna »telofaza« postmejske diobe mikronukleusa.

TABLA III.

- 43.—55. *Colpidium campylum*. Izmjena jezgara i metagamne (sinkarijske) diobe.
43. a. Stacionarna jezgra ovijena tankim slojem homogene plazme.
43. b. Migraciona jezgra s jednostranim debelim slojem homogene plazme.
44. Kariogamija.
45. »Prometafaza« I. metagamne diobe.
46. »Metafaza« (vjerojatno rana anafaza) I. metagamne diobe.
47. »Srednja anafaza« I. metagamne diobe.
48. »Kasna anafaza« I. metagamne diobe.
49. Jezgre-kćeri u »kasnoj telofazi«.
50. »Prometafaza« II. metagamne diobe.
51. »Metafaza« II. metagamne diobe.
52. »Anafaza« II. metagamne diobe.
53. »Kasna anafaza« II. metagamne diobe.
54. Postanak placenti (osnova novog makronukleusa).
55. Jezgre ekskonjuganta. Tamno bojeno homogeno tijelo desno ostatak je makronukleusa.
- 56.—62. *Euplotes charon*. Mikronukleus i makronukleus u somatskoj diobi.
56. Mikronukleus u interfazi (uz makronukleus).
57. Mikronukleus u »prometafazi«.
58. »Kasna anafaza« mikronukleusa.
59. Reorganizacijske ploče u makronukleusu prispjele su do sredine.
60. Reorganizacijske ploče se stapaju.
61. Kontrakcija makronukleusa i uzvitlanje njegova sadržaja.
62. Nakon diobe makronukleusa dolazi u životinjici-kćeri do eliminiranja hromatina.

TABLA IV.

- Sl. 63.—74. *Euplotes charon*, I. zriobena dioba i pojedini kasniji stadiji.
63. Mikronukleus nakon stvaranja sizigija.
64. Početak »profaze« premejske diobe.
65. »Profaza« premejske diobe.

66. »Profaza« I. mejotske diobe. Stadij »sunašca«.
67. Hromosomne tetrade poredane na periferiji jezgre. Stadij, koji bi odgovarao dijakinezi.
68. Prelaz k metakinezi.
- 69.—70. Metafaza I. mejotske diobe. Oblik tetrada može se jasno prepoznati.
71. Jezgre u »prometafazi« postmejotske diobe. Uz njih 6 piknotičkih ostataka (jedan ispod donje jezgre!) i dio makronukleusa.
72. a. Migracione jezgre u susretu.
72. b. Jedna od dviju stacionarnih jezgara. Sve tri jezgre su iz istog sizigija.
73. »Metafaza« metagamne diobe.
- Sl. 75.—79. *Oxytricha* sp. Somatska mitotička mikronukleusa.
75. Mikronukleus u interfazi.
76. »Profaza«.
77. »Metafaza«.
78. »Rana anafaza«.
79. »Kasna anafaza«.

TABLA V.

- Sl. 80.—83. *Oxytricha* sp. I. mejotska dioba.
80. Profaza I. mejotske diobe. Stadij »padobrana«.
81. Kasnija profaza I. mejotske diobe. Elementi, koji leže izolirano, jasno pokazuju dvostruku građu.
82. Metafaza I. mejotske diobe. Donja jezgra gledana s pola, a gornja koso sa strane.
83. Kasna anafaza. Na štapičastim tvorevinama može se zapaziti, da su složene od sitnih hromosomskih elemenata.
- Sl. 84.—91. *Stylonicchia* sp. Zriobene diobe.
84. Metafaza I. mejotske diobe. Pojedini izolirani elementi pokazuju jasnu dvostruku građu, dok u metafaznoj ploči dolazi do stvaranja hromosomnih agregata.
- 85.—86. Anafaza I. mejotske diobe.
87. Telofaza I. mejotske diobe.
88. »Prometafaza« II. zriobene diobe.
89. »Anafaza« II. zriobene diobe.
90. »Telofaza« II. zriobene diobe.
91. »Prometafaza« postmejotske diobe.
- Sl. 92.—99. *Chilodonella dentata* — somatska mitotička mikronukleusa.
92. Početak »profaze«.
93. »Profaza«.
- 94.—99. Razni stadiji »prometafaze«. Vidi se nepravilan izgled i različit broj hromosomnih agregata (»hromosoma«).

TABLA VI.

- Sl. 100.—107. *Chilodonella dentata*; somatska mitotička mikronukleusa (nastavak) i pojedini stadiji diobe makronukleusa.
- 100.—101. »Prometafaza« s 4 odnosno 2 hromosomna agregata.
102. »Metafaza«. Dvije kobasicama slične tvorevine su optički presjeci kroz agregat u obliku šupljeg valjka. Početak promjene strukture makronukleusa.
- 103.—106. »Anafaza«. U sl. 105. struktura makronukleusa se dalje znatno promijenila te stvara prsten, koji se u sl. 106. vidi sa strane.
107. »Telofaza«.
- Sl. 108.—125. *Chilodonella dentata*; zriobene diobe.
- 108.—111. Stadiji profaze I. zriobene diobe.
- 112.—115. »Metafaza« I. zriobene diobe. 112. a i 113. a gledane s pola, 112. b i 113. b gledane sa strane.

116. a. »Anafaza« I. zriobene diobe.
 116. b. »Telofaza« iz istog sizigija, djelomično prekrivena makronukleusom.
 117. »Telofaza« I. zriobene diobe.
 118. Jezgre nakon I. zriobene diobe.
 119.—120. Profaza II. zriobene diobe (119. sa strane, 120. koso s pola i s pola).
 121.—123. Razni stadiji II. zriobene diobe.
 124. III. zriobena dioba; izmjena jezgara.
 125. Stari makronukleus, uz njega placenta i novi mikronukleus.

TABLA VII.

- Sl. 126.—140. Opalina ranarum, dioba »principálnih« jezgara.
 126.—129. Četiri različito velike jezgre iz istog individuuma. 129. Početak profaze.
 130.—132. Profaza.
 133. Prometafaza.
 134. Metafaza, a — odozgo, b — u optičkom presjeku, c — najniži optički presjek.
 135. Rana anafaza.
 136.—137. Srednja anafaza.
 138.—139. Kasna anafaza.
 140. Rana telofaza. Hromosomi nisu više vidljivi, ali se jasno razabiru nukleoli, koji postaju duguljasti.

TABLA VIII.

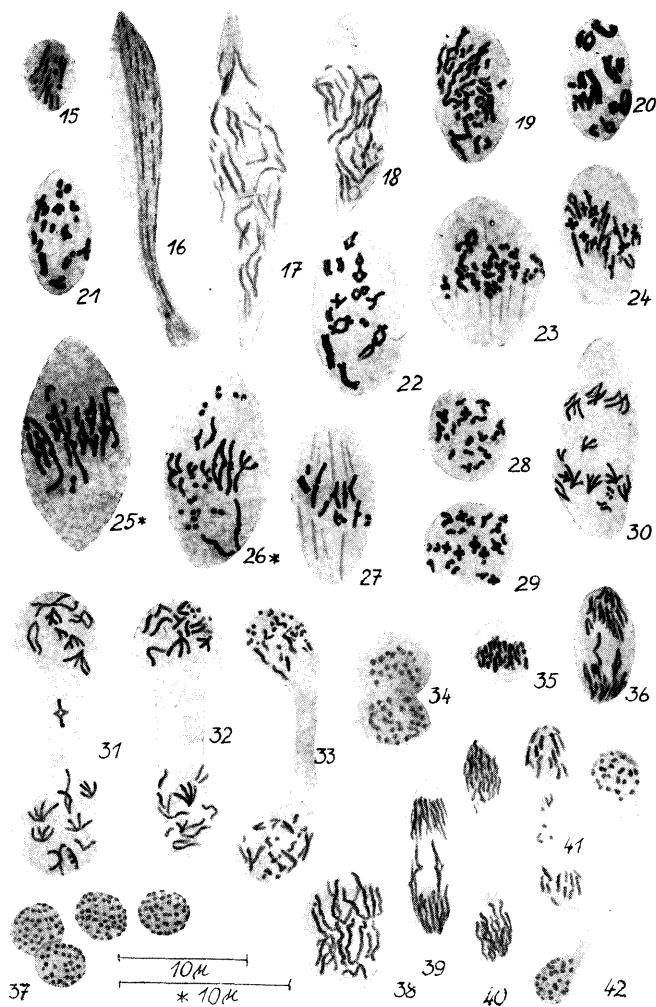
- Sl. 141.—142. Opalina ranarum. Dioba »principálnih« jezgara — nastavak.
 141. Srednja telofaza.
 142. Kasna telofaza.
 Sl. 143.—159. Opalina ranarum — prelaz od nemaskiranih dioba »rezervnih jezgara« k maskiranim diobama »spolnih« jezgara.
 143. Metafaza rezervne jezgre. Vide se jasno hromosomi i nukleoli.
 144. Anafaza »rezervne« jezgre. Vide se samo hromosomi.
 145.—147. Prijelazni stadij k maskiranim diobama. Hromosomi se u svom pravom obliku ne mogu više prepoznati.
 148. »Rezervna« jezgra u interfazi.
 149. Jezgra s upadljivo mnogo nuklearne supstancije. Hromosomi se ne mogu vidjeti.
 150.—152. Razlika u veličini jezgara kod različitih individuuma. Usporedi i jezgru br. 148.
 153. Razlika u veličini jezgara u istom individuumu. Jezgre a i b crtane su onako, kako su se nalazile u životinjci, dakle jedna uz drugu.
 154.—159. Stadiji maskiranih dioba, kod kojih se ni Feulgenovom tehnikom ne mogu razlučiti hromosomi od nuklearne supstancije. Njezne strukture pokazuju izvjesnu sličnost s hromosomima, ali su manje.

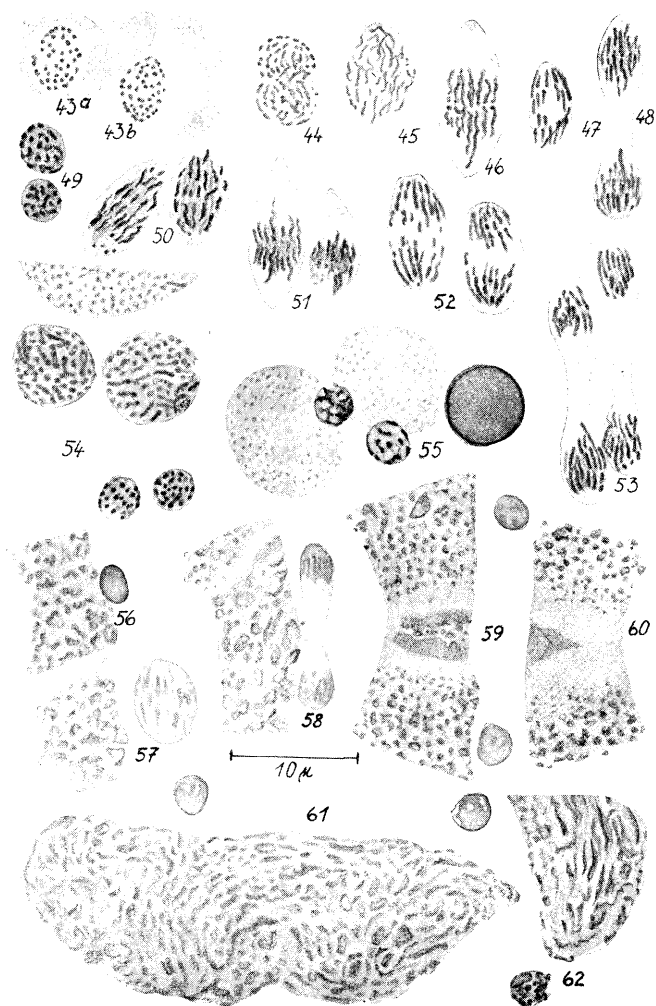
Sl. 150.—159. po Feulgen-preparatima.

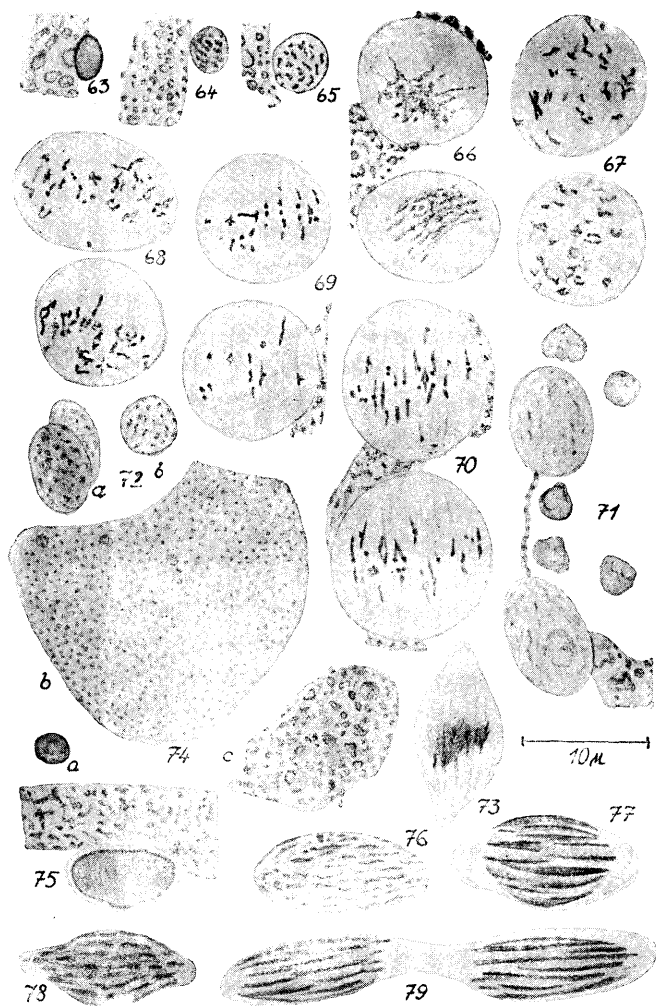
TABLA IX.

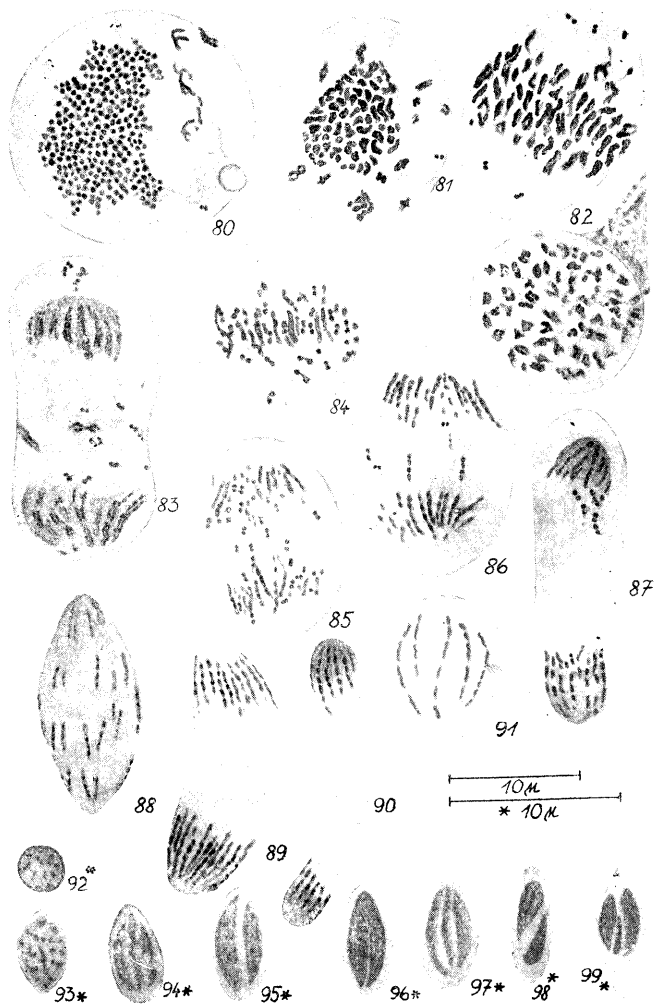
- Sl. 160.—168. Opalina ranarum — razni stadiji maskiranih dioba.
 160. a — najveća, b — najmanja jezgra s maskiranom diobom u istom individuumu.
 161. Srednja anafaza.

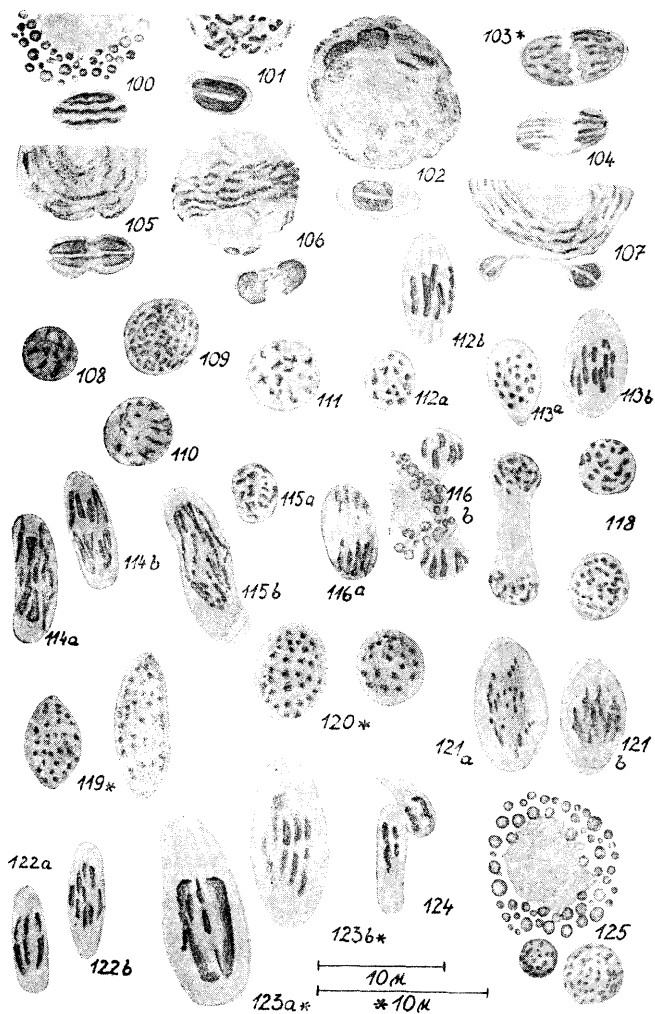


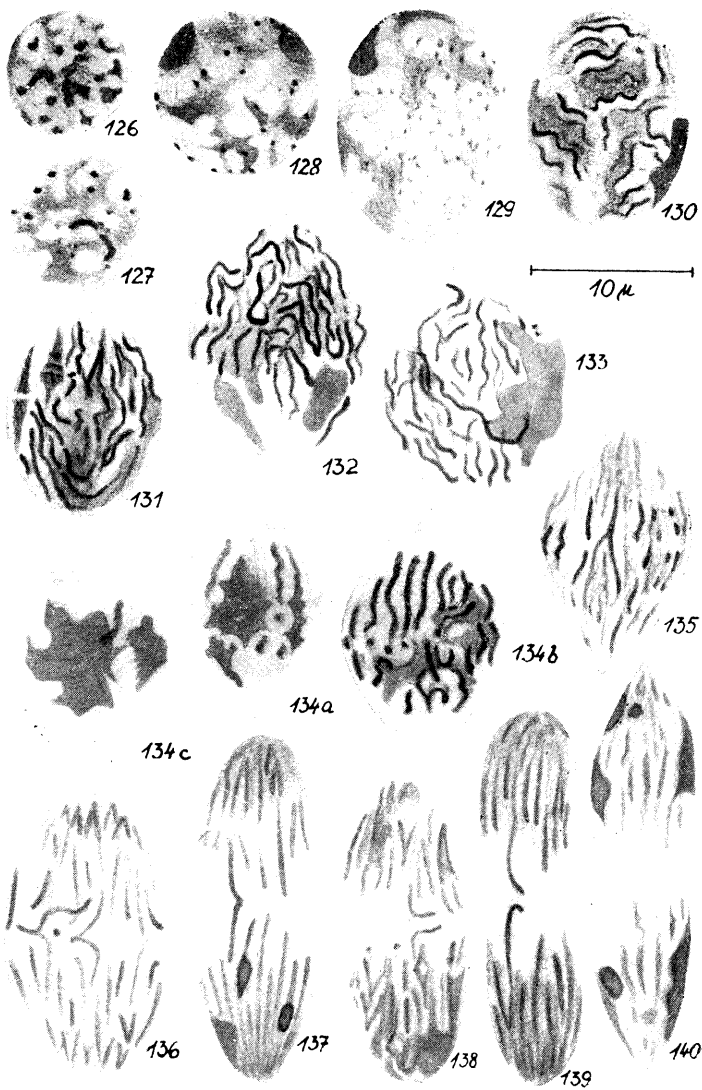


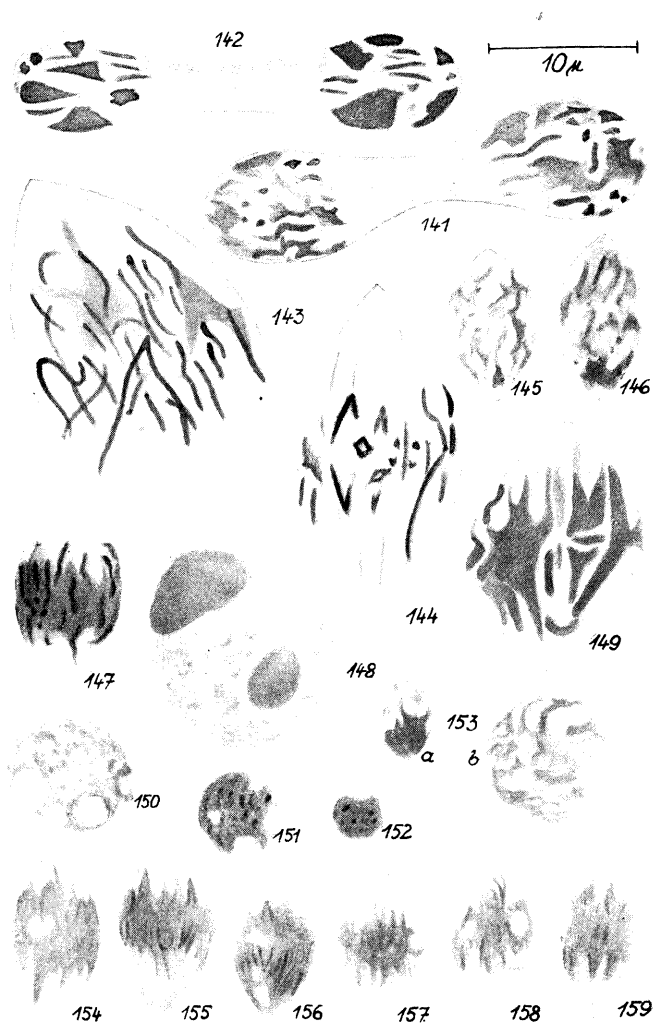


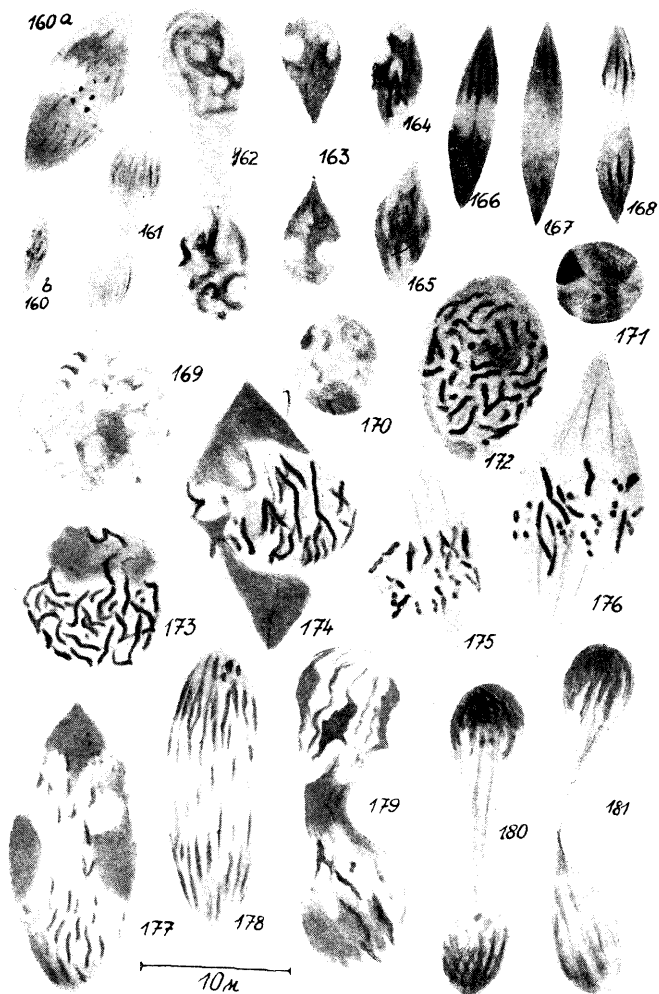












- 162.—163. Telofaza.
164.—165. »Prometafaza«.
166.—167. Kasna anafaza.
168. Telofaza.
Sl. 169.—187. *Cepedea dimidiata* — dioba »principalne« jezgre.
169.—171. Tri različito velike jezgre u interfazi iz iste životinje.
172. Profaza.
173. Prometafaza.
174. Metafaza.
175.—176. Rana anafaza.
177. Srednja anafaza.
178. Kasna anafaza.
179. Telofaza — hromosomi više nisu vidljivi.
180.—181. Srednja telofaza.

Sl. 160.—168. po Feulgen preparatima.

(Izrađeno u Botaničkom zavodu Prirodoslovno-matematičkog fakulteta)



S A D R Ź A J

ZORA KLAS	
Thiophysa gigantea, nova tiobakterija sa Jadranske obale	5
Akademik ALOIS TAVČAR	
Dominantna sterilnost polena kod kukuruza	17
Akademik JOVAN HADŽI	
Upoređivanje spolne faze infuzorija sa spolnim plodenjem kod turbelarija	31
DAVOR MILIČIĆ	
Antocijanofori u epikarpu sremze Prunus Virginiana L.	55
Akademik ALOIS TAVČAR	
Otpadanje osja kod nekih makedonskih mekih pšenica (Triticum turgidum) i način nasljeđivanja	77
STANKO L. KARAMAN	
Novi amfipodi podzemne faune Grčke	106
MILAN HERAK	
Ladiničke Dasycladaceae Jugoslavije i njihovo stratigrafsko značenje	115
BORIVOJE Z. MILOJEVIĆ	
O kanjonskoj dolini Durmitorske Sušice	143
MIHOVIL GRAČANIN	
Prilog genetskoj klasifikaciji tala	153
ZVONIMIR DEVIDE	
Hromosomi cilijata	179

