

## Die Deutung von Endodyogenie und Schizogonie bei Coccidien und anderen Sporozoen\*

Erich Scholtyseck\*\*

Zoologisches Institut der Universität Bonn, Abteilung für Protozoologie

Eingegangen am 5. April 1973

### The Significance of Endodyogeny and Schizogony in the Coccidia and Other Sporozoa

*Summary.* The various phases of the developmental processes of endodyogeny in *Frenkelia* spec. and schizogony in the coccidia *Eimeria tenella* from chickens and *E. stiedae* from rabbits were analyzed with the electron microscope. Endodyogeny and schizogony have been considered as characteristic of Toxoplasmatea and Coccidia, respectively. During endodyogeny in the merozoites of *Frenkelia* spec., an eccentric intranuclear spindle appears in the apical portion of the nucleus. Two centrioles are seen in the cytoplasm near each of the tapered nuclear poles. The entire pellicle of the mother cell, with its typical layers, is used in the differentiation of the daughter cells (merozoites). The schizogony of *E. tenella* and *E. stiedae* occurs in two developmental phases. In the first, nuclear divisions occur, resulting in the formation of a number of nuclei. This multinucleate condition is terminated with the appearance of fissures which subdivide the schizont into uninucleate pieces, so-called cytomeres, which do not become entirely free. The second phase of development in schizogony is recognizable by the occurrence in each cytomere of endodyogeny, with all of its characteristic phenomena. Only the endodyogeny process, therefore, gives rise to the typical merozoite forms. The hypothesis that endodyogeny is the primary and fundamental process of asexual reproduction in the Coccidia and apparently of all Sporozoa, and that schizogony is a secondary process of reproduction, which has developed from endodyogeny, is proposed.

*Zusammenfassung.* Die Entwicklungsprozesse der Endodyogenie bei dem *Toxoplasma*-Organismus *Frenkelia* spec. und der Schizogonie bei dem Hühneroccid *Eimeria tenella* und dem Kaninchencoccid *E. stiedae* wurden mit Hilfe des Elektronenmikroskops in ihren einzelnen Phasen analysiert. Im Vordergrund der Untersuchungen stand dabei die Deutung der beiden asexuellen Vermehrungsformen, die früher für die Toxoplasmatea einerseits und die Coccidien andererseits als charakteristisch galten. Während der Endodyogenie der Merozoiten von *Frenkelia* spec. tritt am apikalen Kernpol eine exzentrische intranukleäre Spindel auf. Im Cytoplasma werden in unmittelbarer Nähe der beiden zugespitzten Kernpole je 2 Centriolen sichtbar. Bei der Differenzierung der beiden Tochterzellen (Merozoiten)

\* Die Ergebnisse wurden auf dem Coccidiose-Symposium in Minneapolis (U.S.A.) am 28. 8. 1972 vorgetragen.

\*\* Mit Unterstützung der Deutschen Forschungsgemeinschaft.

wird die gesamte Pellicula der Mutterzelle mit ihren typischen Schichten verwendet. Die Schizogonie von *E. tenella* und *E. stiedae* erfolgt in 2 Entwicklungsabschnitten: Im 1. Abschnitt treten Kernteilungen auf, die zu einer Vielkernigkeit des Schizonten führen. Die Vielkernigkeit wird aber rasch aufgegeben, indem Spalträume entstehen, die eine Aufteilung des Schizonten in einkernige Teilstücke, sog. Cytomeren, bewirken. Diese Aufteilung führt jedoch nicht zur totalen Lösung der Cytomeren. Der 2. Entwicklungsabschnitt der Schizogonie ist dadurch gekennzeichnet, daß in jeder einkernigen Cytomere eine Endodyogenie mit allen charakteristischen Erscheinungen abläuft. Nur der Endodyogenie-Prozeß führt also zur typischen Merozoitenform. Es wird die Hypothese aufgestellt, daß die Endodyogenie als primäre und grundlegende asexuelle Vermehrung der Coccidien und wahrscheinlich aller Sporozoen anzusehen ist und daß die Schizogonie eine sekundäre Vermehrung ist, die sich aus der Endodyogenie entwickelt hat.

### Einleitung

Im Entwicklungsgang der Telosporidien (Gregarinen, Coccidien, Hämosporidien) kommen in der Regel eine Gamogonie und mehrere Agamogonien vor. Während die ungeschlechtliche Vermehrung bei den Eugregarinen und Eucoccidien lediglich als Sporogonie auftritt, gibt es bei den intracellulär parasitierenden Sporozoen (Schizogregarinen, Schizococcidien einschließlich der Hämosporidien) einen weiteren Typ der asexuellen Vermehrung: die Schizogonie. Diese multiplikative Vermehrung hat das Ziel, den Wirt mit vielen Einzelparasiten zu überschwemmen. Ferner ist von einigen Sporozoen die Endodyogenie als asexueller Vermehrungstyp bekannt, von Goldman *et al.* (1958) als innere Zweiteilung zum ersten Mal beschrieben. Sie galt lange Zeit als einzige Vermehrungsform der Toxoplasmatea. Zu ihnen gehören 4 Gattungen (*Toxoplasma*, *Sarcocystis*, *Frenkelia* und *Besnoitia*), die seit kurzem jedoch zu den Coccidien gezählt werden.

Zur Endodyogenie gibt es bisher eine Reihe elektronenmikroskopischer Untersuchungen (Gavin *et al.*, 1962; Scholtyseck, 1965; Sheffield, Hammond, 1966, 1967; Sénaud, 1967; van der Zypen, Piekarski, 1967; Sheffield, Melton, 1968, 1969, 1970; Colley, Zaman, 1970). Eine detaillierte elektronenmikroskopische Analyse der Entwicklungsmechanismen der Endodyogenie bei *Frenkelia spec.* wurde erstmalig von Kepka und Scholtyseck (1970) durchgeführt (Abb. 1). Vermehrungstypen, die Ähnlichkeit sowohl mit der Endodyogenie als auch mit der Schizogonie haben, wurden bei dem Coccid *E. callospermophili* aus Zellkulturen und bei *Toxoplasma gondii* aus dem Dünndarmepithel von Katzen beschrieben, bei *E. callospermophili* als innere Schizogonie, bei *T. gondii* als Endopolygenie (Roberts, Hammond, Anderson, 1970; Piekarski, Pelster, Witte, 1971).

Im Jahre 1962 faßten Gavin u. Mitarb. die Endodyogenie als eine Schizogonie auf, bei der aus einer Mutterzelle nicht zahlreiche Tochterzellen wie sonst bei der Schizogonie, sondern nur zwei entstehen. Die in der vorliegenden Arbeit dargestellten Untersuchungen und Analysen der Endodyogenie bei *Frenkelia spec.* und der Schizogonie bei *E. tenella* und *E. stiedae* sollen der Begriffsbestimmung dieser beiden asexuellen

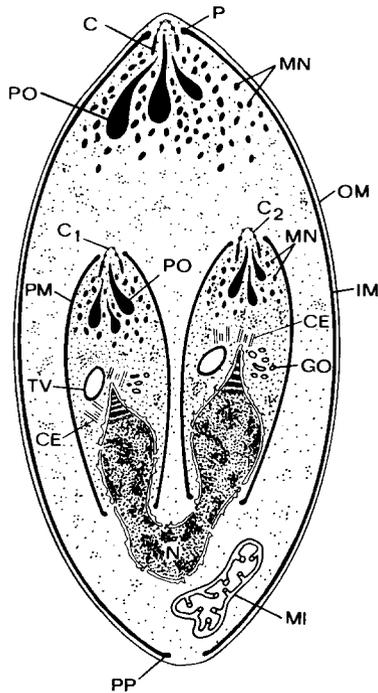


Abb. 1. *Frenkelia* spec. Schematische Darstellung eines fortgeschrittenen Endodyogeniestadiums

Vermehrungsformen dienen. Daraus ergibt sich die Möglichkeit, das Verhältnis von Endodyogenie und Schizogonie zueinander darzustellen und ihre Bedeutung bei den Sporozoen zu diskutieren.

### Material und Methode

*Frenkelia* spec. (M-Organismus). Lebend gefangene Rötelmäuse (*Clethrionomys glareolus*) wurden nach Feststellung ihrer Infektion abgetötet. Nach Entnahme cystenhaltiger Gehirnteile wurden *Frenkelia*-Cysten mittlerer Größe (150–200  $\mu\text{m}$ ) nach einer modifizierten Methode von Sjöstrand (1956) in 1%iger  $\text{OsO}_4$ -Lösung fixiert, danach in Pufferlösung (pH 7,3) ausgewaschen und über Aceton entwässert. Im 70%igen Entwässerungsmedium erfolgte eine Nachkontrastierung mit Phosphorwolframsäure und Uranylacetat. Zur Einbettung diente Vestopal W. Die Dünnschnitte wurden mit einem LKB-Ultratom angefertigt. Zur elektronenmikroskopischen Untersuchung stand ein Zeiss EM 9A zur Verfügung.

*Eimeria tenella*. Coccidienfrei aufgezogene Hühnchen (24) wurden im Alter von etwa 3 Wochen mit 50000–2000000 sporulierten Oocysten eines reinen Stammes von *E. tenella* per os infiziert. Täglich vom 2.—8. Tag nach der Infektion wurden Wirtstiere getötet. Teile des Blinddarmepithels wurden in 1%iger  $\text{OsO}_4$ -Lösung

(Sjöstrand, 1956) fixiert, in Cacodylatpuffer (0,1 M, pH 7,3) ausgewaschen und über Äthanol entwässert. In der 70%igen Alkoholstufe wurde das Gewebe mit Phosphorwolframsäure und Uranylacetat 2 Std nachkontrastiert. Die Einbettung erfolgte über Aceton in Vestopal W, wobei der Übergang von Äthanol in Aceton im absoluten Entwässerungsmedium stattfand. Die Dünnschnitte wurden mit einem LKB-Ultratom hergestellt und 30 min mit Uranylacetat nochmals nachkontrastiert. Die elektronenmikroskopische Untersuchung wurde an einem Zeiss EM 9 A durchgeführt.

Ein Teil des Materials stammt aus Zellkulturen. Die hierfür verwendeten Methoden wurden schon früher beschrieben (Strout, Scholtyseck, 1970).

*Eimeria stiedae*. Die Methoden, die bei der Infektion und der Präparation für die elektronenoptischen Untersuchungen verwendet wurden, sind bereits in früheren Publikationen ausführlich dargestellt worden (Scholtyseck, 1965).

## Ergebnisse

### 1. *Frenkelia* spec. (M-Organismus)

Die meistens kugelig-ovoiden Cysten werden von einer elektronendichten Schicht begrenzt, die vermutlich eine umgeformte Zellmembran ist (Kepka, Scholtyseck, 1970). Cysten mittlerer Größe mit einem Durchmesser von etwa 150—200  $\mu\text{m}$  enthalten drei morphologisch unterscheidbare Zelltypen: Metrocyten, intermediäre Zellen und Endodyocyten. Sie können alle als Merozoiten aufgefaßt werden. Alle drei Merozoiten-Formen in der Cyste vermehren sich durch Endodyogenie, die schon früher von uns beschrieben worden ist (Kepka, Scholtyseck, 1970). Weitere Untersuchungen über die Endodyogenie der Metrocyten führten nun zu ergänzenden Ergebnissen. Die Metrocyten liegen pflastersteinartig an der Cystenwand, gelegentlich auch vereinzelt im Innern (Abb. 2—4). Nach innen folgen die intermediären Zellen und die Endodyocyten, eingebettet in eine amorphe Cystengrundsubstanz. Die Metrocyten erscheinen im Querschnitt 4—6eckig und sind durch eine schmale Zone voneinander getrennt, die amorphe Cystengrundsubstanz enthält (Abb. 3, 4; *GS*). Die Metrocyten sind etwa 5—7  $\mu\text{m}$  lang und 2—3  $\mu\text{m}$  breit und von einer typischen Sporozoenpellikula umgeben, die aus drei Elementarmembranen besteht (Abb. 3, 4; *PE*). Die beiden inneren Membranen liegen allerdings so dicht beieinander, daß sie wie eine einzige osmiophile Schicht wirken (Abb. 3, 4; *IM*). Die Pellikula enthält große Mikroporen, bis zu drei auf einem Dünnschnitt. Diese Beobachtung ist für Merozoitenstadien neu. Die der Cystenwand zugekehrte Seite der Metrocyten zeigt oft zahlreiche tiefe Einfaltungen der Pellikula. Die übrigen Feinstrukturen, wie Conoid, Rhoptrien, Mikronemen, Polysaccharidgrana, Mitochondrien usw. wurden schon früher untersucht (Kepka, Scholtyseck, 1970).

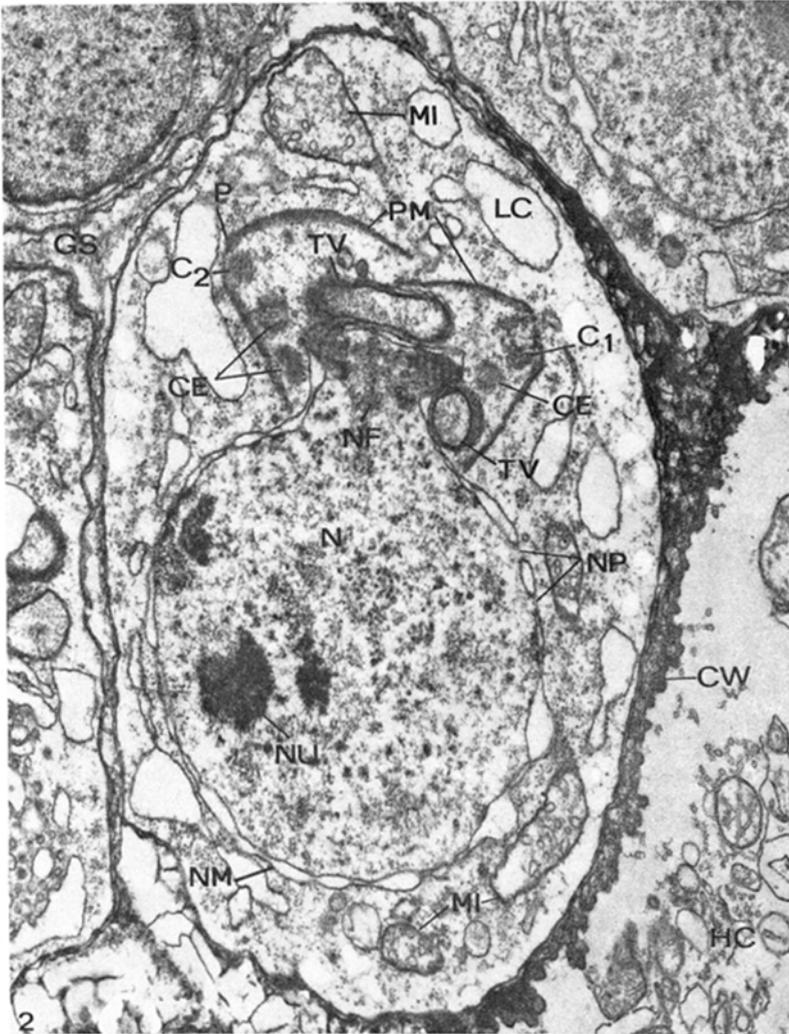


Abb. 2. *Frenkelia* spec. Elektronenmikroskopische Aufnahme. Schnitt durch einen Metrocyten, in dem der Endodyogenieprozeß im Initialstadium angetroffen wurde. Die Kernspindel (*NF*) ist exzentrisch angeordnet. An den Spindelpolen befinden sich je zwei Centriolen (*CE*). Die Tochterzellanlagen zeigen schon zu diesem frühen Zeitpunkt je ein Conoid (*C<sub>1</sub>*, *C<sub>2</sub>*). Bemerkenswert erscheint die charakteristische Streifung der Spindelpole und die Tatsache, daß die Kernmembran (*NM*) während der Kernteilung erhalten bleibt. 24800fach

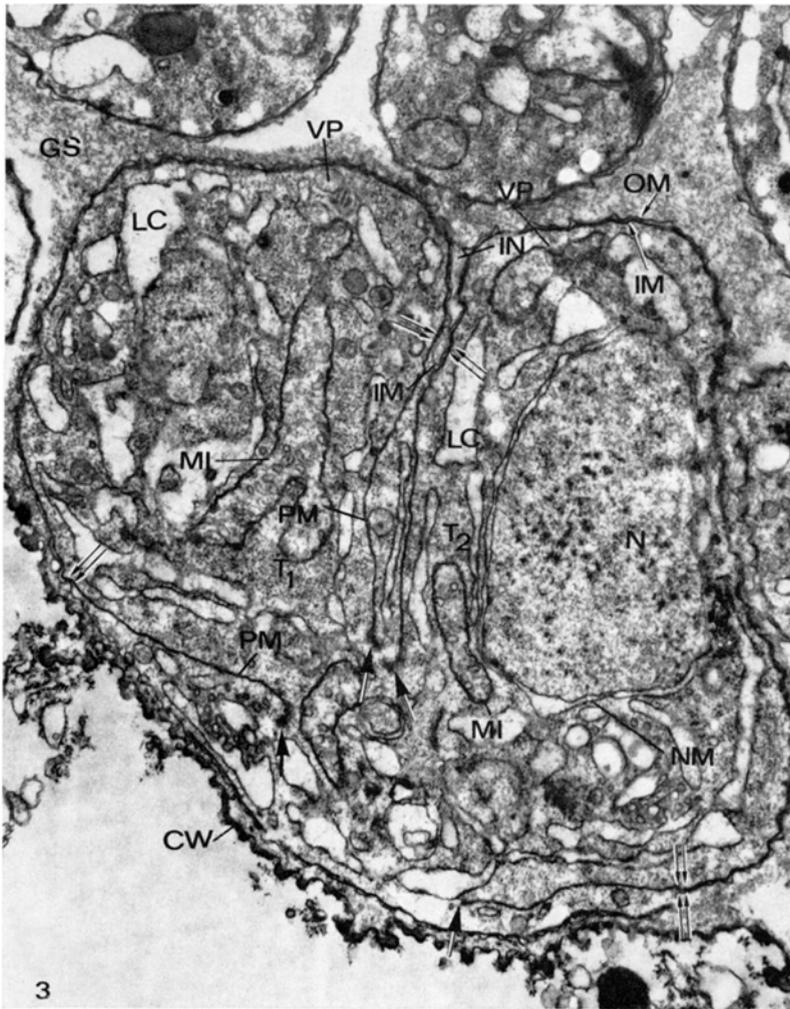


Abb. 3. *Frenkelia* spec. Elektronenmikroskopische Aufnahme. Fortgeschrittene Endodyogenie in einem Metrocyten, innerhalb dessen die beiden Tochterzellen ( $T_1$ ,  $T_2$ ) schon weit ausgebildet sind. Die Conoide sind hier nicht getroffen. Die Enden der inneren Pellikulamembranen der Tochterzellen sind durch die großen Pfeile gekennzeichnet. Bemerkenswert ist, daß die inneren Pellikulamembranen des Metrocyten wie die äußere (OM) von den Tochterzellen ( $T_1$ ,  $T_2$ ) übernommen werden (weiße Doppelpfeile). 22250fach

In den Metrocyten wurde die als Endodyogenie bezeichnete innere Zweiteilung in den einzelnen Schritten beobachtet. Dabei waren strukturelle Verbindungen zwischen dem inneren Membrankomplex der

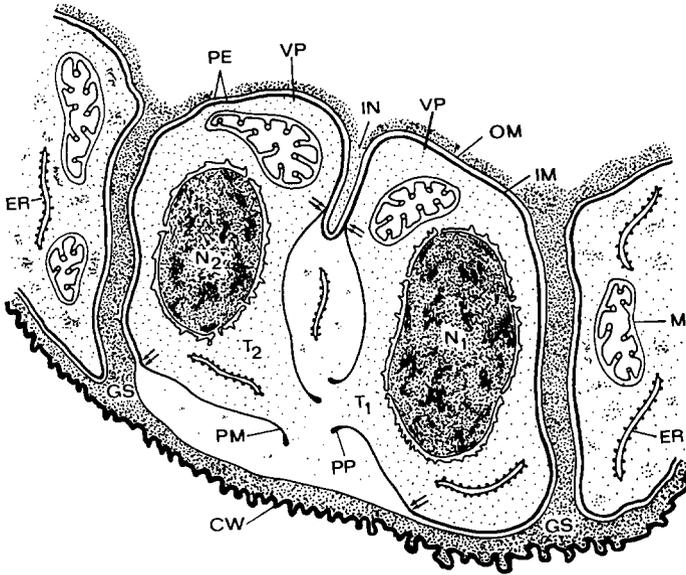


Abb. 4. *Frenkelia* spec. Schematische Darstellung der fortgeschrittenen Endodyogenie in einem randständigen Metrocyten. An den durch die Pfeile gekennzeichneten Stellen werden die inneren Pelliculamembranen der Mutterzelle von den Tochterzellen ( $T_1$ ,  $T_2$ ) übernommen

Pellikula von Mutterzelle und Tochterzellen sichtbar. Die Endodyogenie von *Frenkelia* beginnt mit der Teilung des sog. dickwandigen Vesikels, der am apikalen Zellpol liegt und als Golgi-Adjunkt bezeichnet wird. Gleichzeitig mit ihm teilt sich der Golgiapparat. Dieser Vorgang ist auf dem Schnittbild eines Initialstadiums bereits vollzogen (Abb. 2). Am apikalen Pol des Nucleus wird zu diesem Zeitpunkt ein Spindelapparat sichtbar, dessen Pole spitze Kernvorsprünge bilden (Abb. 1, 2). Dabei liegt die Längsachse der Spindel quer zur Längsachse der Mutterzelle. Die osmiophilen Kernvorsprünge sind quergestreift, und es sind ihnen jeweils zwei Centriolen im Cytoplasma zugeordnet, also vier pro Kern (Abb. 2). Die Centriolen bestehen aus neun peripheren Mikrotubuli und einem zentralen Mikrotubulus (Abb. 2; CE). Die typische Kernbegrenzung (NM) bleibt während des gesamten Teilungsprozesses erhalten. Über den Kernvorsprüngen bildet sich im Cytoplasma je eine Tochterzellanlage in Form einer flachen Klappe (Abb. 2, *PM*). Am apikalen Pol der Kappe ist eine Öffnung ausgespart, deren Rand zu einem Polring verdickt ist (Abb. 2, *P*). In dieser vorderen Öffnung der Kappe liegt schon zum frühesten Zeitpunkt das Conoid der Tochterzelle (Abb. 2)

Die osmiophilen Kappen stellen also die mittlere und innere Pellikulamembran dar. Der Nukleolus der Mutterzelle bleibt zu Beginn der Kernteilung kompakt. Erst später erscheinen, auf die Tochterzellen verteilt, zwei Nukleoli. Während die kappenförmige Begrenzung der Tochterzellen konisch in Richtung auf das Conoid der Mutterzelle auswächst, erscheint im apikalen Bereich der Tochterzellen je ein elektronendichter Einschluß, der wahrscheinlich ein Vorläufer der Rhoptrien ist.

Wenn die Tochterzellanlagen fast das gesamte Lumen der Mutterzelle ausfüllen, verschmelzen die kappenartigen inneren Membranen der Tochterzellen mit den inneren Pellikulamembranen der Mutterzelle (Abb. 3, Doppelpfeile). So sind die Hinterenden der inneren Pellikulamembranen (PM) noch frei, während zum vorderen Pol hin die Verschmelzung bereits vollzogen ist. Auf diese Weise geht die gesamte Pellikula der Mutterzelle in der Pellikula der Tochterzellen auf (Abb. 3).

Gelegentlich ist ein Restkörper zu sehen. Das vorliegende Material reicht jedoch nicht aus um zu entscheiden, ob ein Restkörper regelmäßig zurückbleibt.

## 2. *Eimeria tenella*<sup>1</sup>

Die Untersuchung der Schizogonie des Hühnercoccids *E. tenella* erfolgte an infiziertem Material vom 4. und 7. Tag p.i. Der Vermehrungsprozeß beginnt mit einer Reihe von Kernteilungen und führt zu einem vielkernigen Schizonten.

Während der Kernteilungen der Schizogonie treten exzentrische Kernspindeln auf und Centriolen an den Kernpolen im Cytoplasma. Spindeln und zugehörige Centriolen kommen nicht nur in mehrkernigen, sondern sogar in ein- und zweikernigen Schizonten vor (Abb. 5, 7). Häufig wird der Kern von den beiden pfeilspitzenartigen elektronendichten Spindelpolen vorgewölbt (Abb. 5). 4—8 Mikrotubuli erstrecken sich durch die Spindel; einige verlaufen von Pol zu Pol, andere enden vorzeitig oder verlassen die Schnittebene. Gelegentlich scheinen sie sich über die Spindelpole hinaus bis zu den Centriolen fortzusetzen. Die Centriolen liegen offenbar paarweise an jedem Spindelpol, also 4 pro Kern (Abb. 7). Das Centriol erweist sich im Querschnitt als ein Ring aus 9 einfachen peripher angeordneten Mikrotubuli, die ein zentrales Element umschließen und in eine dichte Grundsubstanz eingebettet sind.

Mit fortschreitendem Schizontenwachstum nimmt die Zelldifferenzierung zu. Kerne, dickwandige Vesikel und Golgiapparate vermehren

<sup>1</sup> Über die *Eimeria tenella*-Untersuchungen wird in einer Dissertation der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät der Universität Bonn von Fräulein G. Hoppe ausführlich berichtet werden.

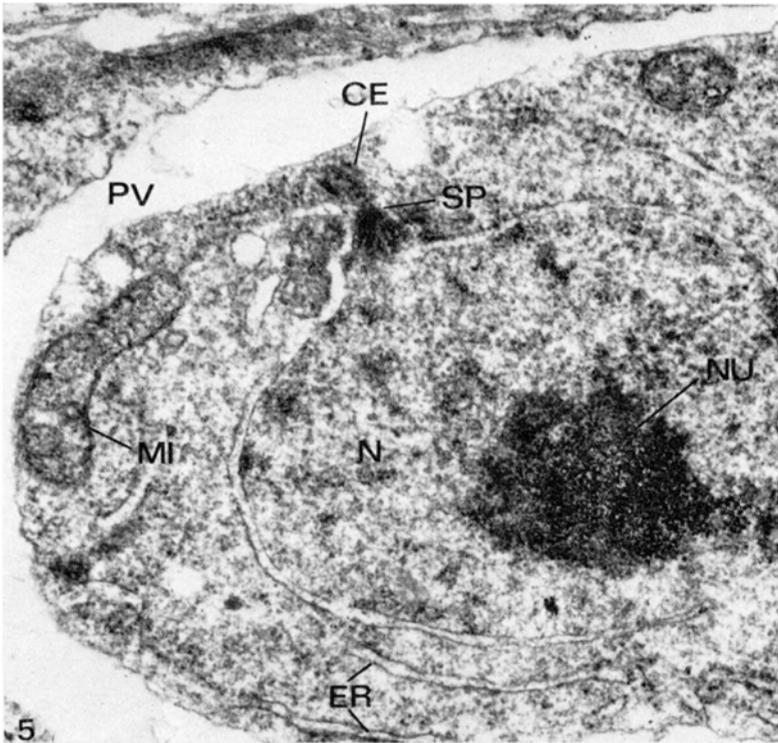


Abb. 5. *Eimeria tenella*. Kernteilungsstadium innerhalb eines Schizonten aus der Gewebekultur. Als charakteristisches Merkmal zeigt sich der stark vorgewölbte Spindelpol (*SP*), in dem die einzelnen Spindelfibrillen zu erkennen sind. 42750fach

sich im Verhältnis 1:1. Im vielkernigen Schizonten läßt sich vom 4. Tag p.i. an die Merozoitenbildung bei *E. tenella* im einzelnen verfolgen. Aus den Schizonten mit 8—20 Kernanschnitten gehen etwa doppelt so viele Tochterindividuen hervor. Zum Zeitpunkt der Merozoitenbildung sind die Schizontenkerne überall im Cytoplasma verteilt; sie liefern das Material für die späteren Merozoitenkerne. Merozoiten entstehen also sowohl am Rand als auch im Innern des Schizonten.

Gleichzeitig mit den Merozoitenanlagen erscheint in den Schizonten von *E. tenella* ein spezielles Membransystem: bläschenartige oder länglich abgeplattete Hohlräume, von glatten Membranen begrenzt, ordnen sich in linearer Formation mehr oder weniger halbkreisförmig um die einzelnen Zellkerne. So entsteht der Eindruck von präformierten Trennungslinien, die jeweils ein vor dem Kern gelegenes Golgfeld und ein

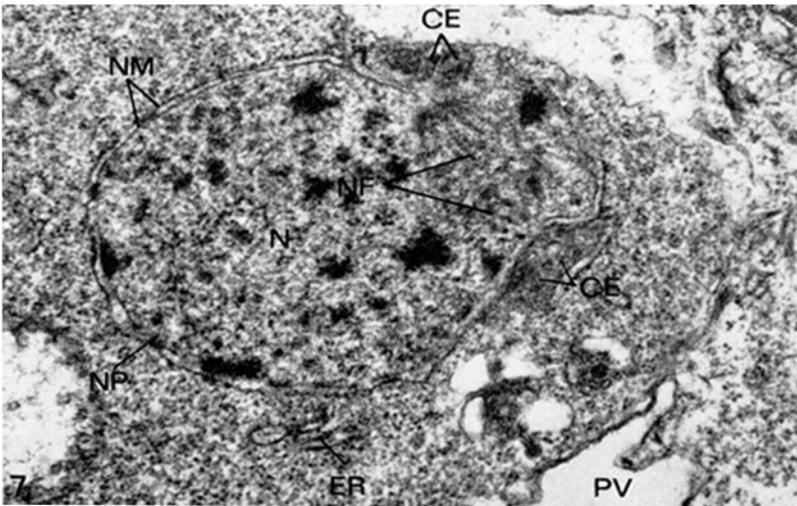
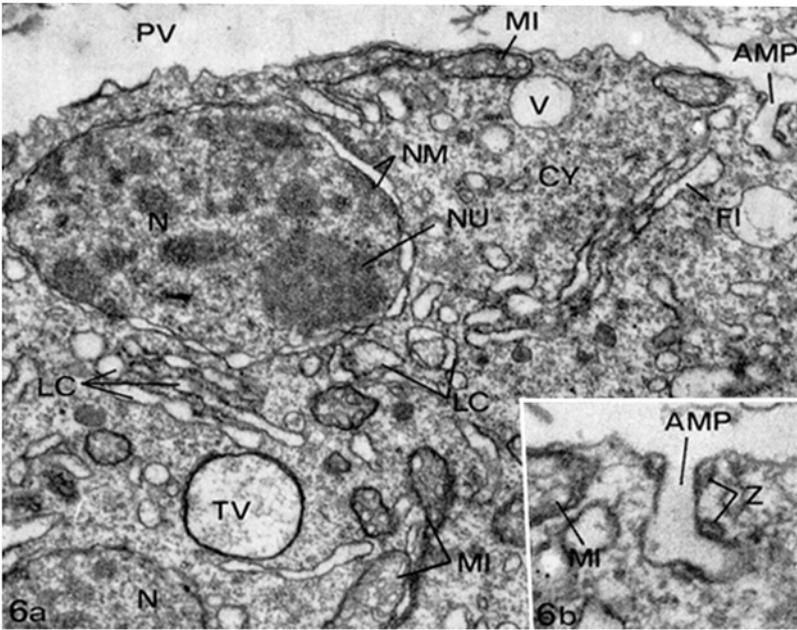


Abb. 6a. *Eimeria stiedae*. Schnitt durch die Randpartie eines Schizonten. Randständige Kerne (*N*) und Teile des Cytoplasmas werden durch Oberflächeneinfaltungen (*FI*) und innere Lakunensysteme (*LC*) zu Beginn der Merozoitenbildung vom Schizonten getrennt. 20000fach. 6b. *Eimeria stiedae*. Atypische Mikropore in einem Schizonten. 52000fach

Abb. 7. *Eimeria tenella*. Schnitt durch einen Schizontenkern (*N*), der die Teilung einleitet, ohne daß es dabei zu einer Merozoitenbildung kommt. An den Polen der exzentrisch gelagerten Spindel (*NF*) sind je zwei Centriolen (*CE*) angeordnet. 36000fach

Cytoplasmaareal abzugrenzen scheinen. Wo diese vesikelartigen Hohlräume an die Zelloberfläche stoßen, scheinen sie durch Invaginationen entstanden zu sein. Im Frühstadium der Merozoitenentwicklung unterscheidet sich die Begrenzung dieser Hohlräume nicht von ER-Anschnitten; in einem späteren Stadium vergrößern sich die Hohlräume offenbar durch Zusammenfluß; ihr Lumen weist dann gleichen Kontrast wie die parasitophore Vakuole auf. Durch diese Aufteilung des vielkernigen Schizonten in einkernige Cytomeren ist praktisch die Vielkernigkeit aufgegeben. Zu einer gänzlichen Abtrennung der Cytomeren kommt es jedoch im allgemeinen nicht. Es entstehen dabei Strukturen, wie sie in Abb. 6a zu erkennen sind.

Höhepunkt und Abschluß der Schizogonie bei *E. tenella* ist die Merozoitenbildung (Abb. 8). Sie ist mit einer speziellen Kernzerteilung gekoppelt. Zu Beginn beider Prozesse teilt sich der Golgiapparat; dabei werden Centriolen und Kernspindeln sichtbar. Vor den Spindelpolen, die in spitzen Kernvorsprüngen enden, liegt jeweils ein Golgifelld. Im Unterschied zu den früheren Kernteilungsfolgen erscheint bei der Merozoitenbildung jeweils über den Kernvorsprüngen eine elektronendichte Schicht als flache Kappe. Sie läßt am apikalen Pol eine zentrale Öffnung erkennen, deren Rand zu einem Polring (P) verdickt ist. In dieser runden, endständigen Öffnung ist bereits zu diesem Zeitpunkt ein Conoid erkennbar (Abb. 8, C). Die kappenartigen Cytoplasmadifferenzierungen können daher als Merozoitenanlagen, die „Kappe“ selbst als innere Pellikulaschicht identifiziert werden. Mit ihrem apikalen Pol grenzen die Merozoitenanlagen stets an die schon beschriebenen vesikelartigen Hohlräume, deren Begrenzung zur äußeren Membran der Merozoitenpellikula wird. Diese Vesikel vergrößern sich später mit dem Wachstum der Merozoitenanlagen zu tiefen vakuolären Spalträumen. In dem Wachstumsprozeß streckt sich der Kern in Richtung der Spindelpole. Im typischen Fall (Abb. 8) ist er zweizipflig, die beiden unvollständigen Tochterzellen sind über einen gemeinsamen Mutterkern miteinander verbunden. Der Neigungswinkel der Kernschenkel beträgt dann  $140\text{--}160^\circ$ . Die Kernmembranen bleiben während der Teilung erhalten. Serienschnitte zeigen, daß der Nukleolus in diesem Stadium bereits auf die beiden Tochterkerne aufgeteilt ist. Einige längs verlaufende Mikrotubuli sind noch in den Tochterkernen zu sehen. Sie enden in Spindelpolen, die im Medianschnitt quergestreift sind.

Die konischen, hinten noch nicht geschlossenen Merozoiten haben am vorderen Pol nur wenige Mikronemen und ein elektronendichtes Vesikel, vermutlich die Rhoptrienanlage. Ein bis drei dickwandige Vesikel liegen an der dem Golgiapparat entgegengesetzten Seite. Während des Pellikulawachstums erscheint eine normal strukturierte Mikropore. Eine endständige Verdickung der beiden inneren Pellikulamem-

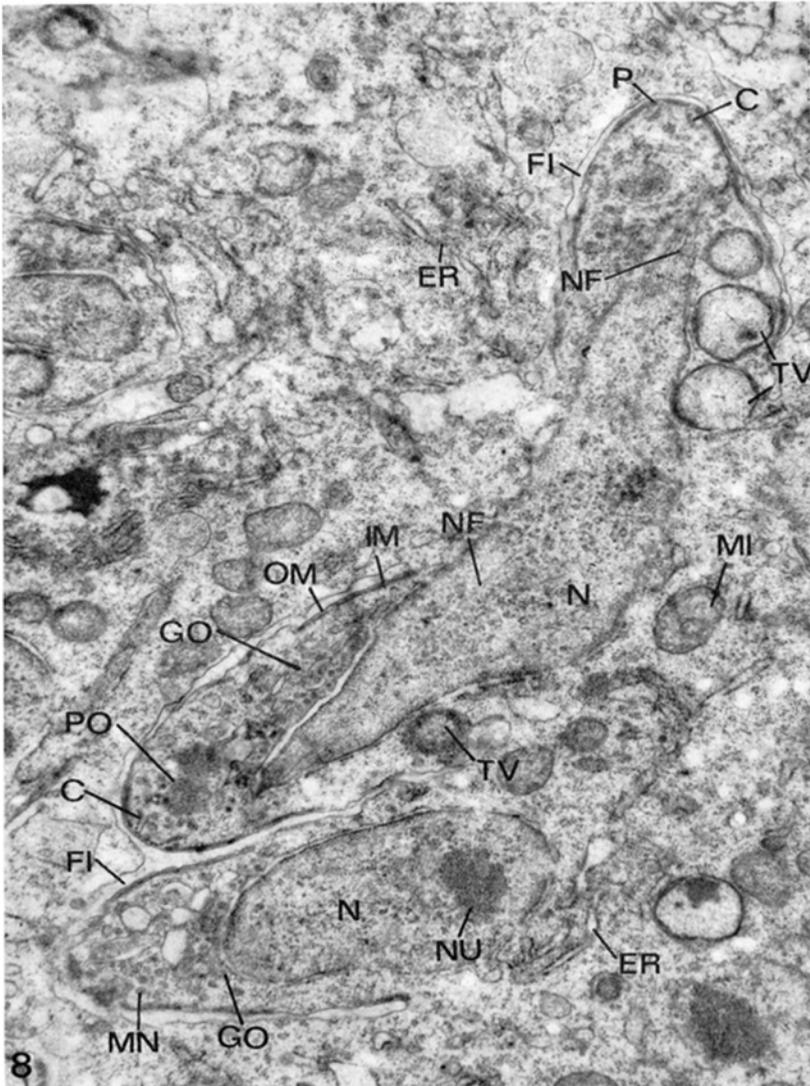


Abb. 8. *Eimeria tenella*. Letzte Kernteilung im Schizonten mit gleichzeitiger Merozoitenbildung, die im Erscheinungsbild der Endodyogenie gleicht. 37260fach

branen (= hinterer Polring) ist erst nach Abschluß der Differenzierung zu sehen. Subpellikuläre Mikrotubuli unterlagern die bereits vorhandene Pellikula.

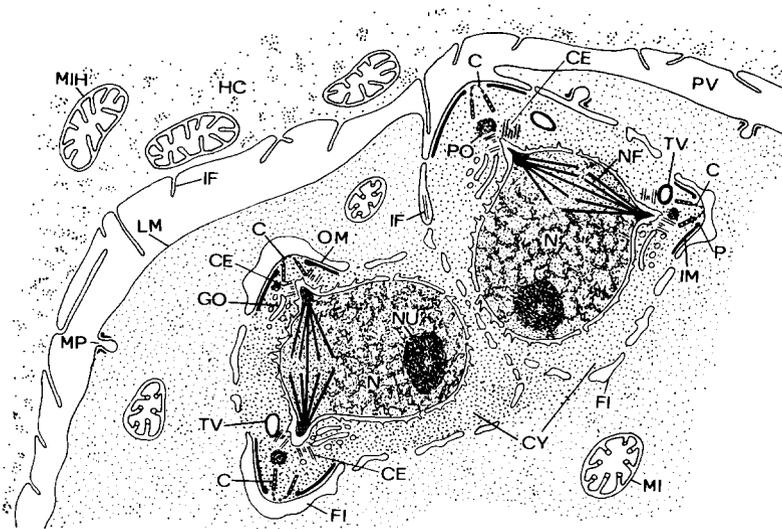


Abb. 9. *Eimeria tenella*. Schematische Darstellung der Merozoitenbildung innerhalb von Cytomeren (CY) eines Schizonten

Mit fortschreitender Merozoitendifferenzierung nimmt der Schizont ein zerklüftetes Aussehen an. Zentripetale Invaginationen der Schizontenmembran werden an ihrem Grunde von zentrifugal heranwachsenden Merozoiten kegelförmig vorgewölbt, so daß die Schizontenmembran dort zur äußeren Membran der Tochterzellen wird. Auch im Innern des Schizonten ist die Bildung der Merozoitenpellikula mit der Vergrößerung des umhüllenden Spaltraumes synchronisiert. Schließlich fließen periphere und innere Hohlräume vollkommen zusammen, und die Merozoiten werden frei. Es kann nicht entschieden werden, ob ein Restkörper zurückbleibt, nachdem alle Merozoiten differenziert sind.

In Abb. 9 ist die Merozoitenbildung von *E. tenella* mit den typischen Erscheinungsbildern der Endodyogenie an 2 Cytomeren schematisch dargestellt.

### 3. *Eimeria stiedae*

Im Rahmen der Untersuchung wurden die Schizontengenerationen des 12. Tages p.i. analysiert. Dabei konnten zwei verschiedene Schizontentypen beobachtet werden. Der erste Typ erweist sich als kugelig und ist mit ca. 25  $\mu\text{m}$  Durchmesser bedeutend größer als der zweite, der lediglich 8–10  $\mu\text{m}$  groß wird. Die große Schizontengeneration erscheint dabei vorwiegend zu Beginn einer Infektion und bildet etwa 50 Mero-

zoiten aus. Als Begrenzung des Schizonten zur typischen parasitophoren Vakuole hin tritt eine einzige Elementarmembran in Erscheinung. An zahlreichen Stellen der Oberfläche des Schizonten konnten charakteristische Mikroporen beobachtet werden. In einem Fall fand sich darüber hinaus eine Art „Doppelmikropore“, denn an der Basis einer Mikroporeninvagination, die durch einen Innenzylinder versteift war, befand sich eine zweite typische Mikropore (Abb. 6b, *AMP*), ein Zeichen dafür, daß der Bauplan dieser Organellen nicht starr ist.

Innerhalb der großen Schizonten liegen die Kerne unmittelbar vor Beginn der Merozoitenbildung im gesamten Cytoplasma verteilt. Sie sind somit nicht nur auf die Randpartie beschränkt, so daß das Cytoplasma weitgehend genutzt wird und nur ein geringer Restkörper zurückbleibt. Die Verteilung der Kerne über das gesamte Schizontencytoplasma erfordert bei der Merozoitenausbildung einen besonderen Bildungsmechanismus, der von der typischen, in Form der Evagination verlaufenden Schizogonie anderer Arten abweicht. So können bei dieser Anordnung die einzelnen Merozoitenanlagen im Innern des Schizonten nur durch das Zusammentreten von Spaltraumsystemen des endoplasmatischen Retikulums voneinander getrennt werden. Diesem inneren Zusammenfluß der Spalträume kommt von der Peripherie noch ein Invaginationsvorgang entgegen (Abb. 6a, *FI*, *LC*). Auf diese Weise erfolgt die Aufgliederung des Schizontencytoplasmas in *einkernige Cytomeren*, in denen vermutlich dann nur noch eine einzige Kernteilung mit gleichzeitiger Merozoitenbildung stattfindet. Es liegen also hier die gleichen Verhältnisse wie bei *E. tenella* vor.

Die Beobachtung der Schizogonie bei *E. tenella* und *E. stiedae* führt somit zu neuen Erkenntnissen über diesen wichtigen Vermehrungsprozeß der Sporozoen:

1. Die Schizogonie besteht aus zwei hintereinander geschalteten Entwicklungsphasen. Die 1. Phase führt über ein vielkerniges Stadium zu zahlreichen einkernigen Cytomeren, die sich von der Mutterzelle nicht vollkommen lösen. Diese Phase kann als „Cytomerenbildung“ bezeichnet werden.

2. In der 2. Phase läuft in jeder Cytomere eine Kernteilung ab, die alle typischen Merkmale der Endodyogenie aufweist und zur Differenzierung von zwei Merozoiten führt. Es entstehen somit in jedem Schizonten doppelt so viele Merozoiten wie Cytomeren vorhanden waren. Diese Phase kann als „Merozoitenbildung“ aufgefaßt werden.

3. Die Endodyogenie ist nach diesen Befunden der einzige Vermehrungsprozeß, aus dem die Merozoitenform mit ihren charakteristischen Merkmalen wie Conoid, Rhoptrien, Polringen, Mikronemen usw. hervorgeht. Diese spezielle Zweiteilung kann daher als die primäre Vermehrung der Sporozoen aufgefaßt werden.

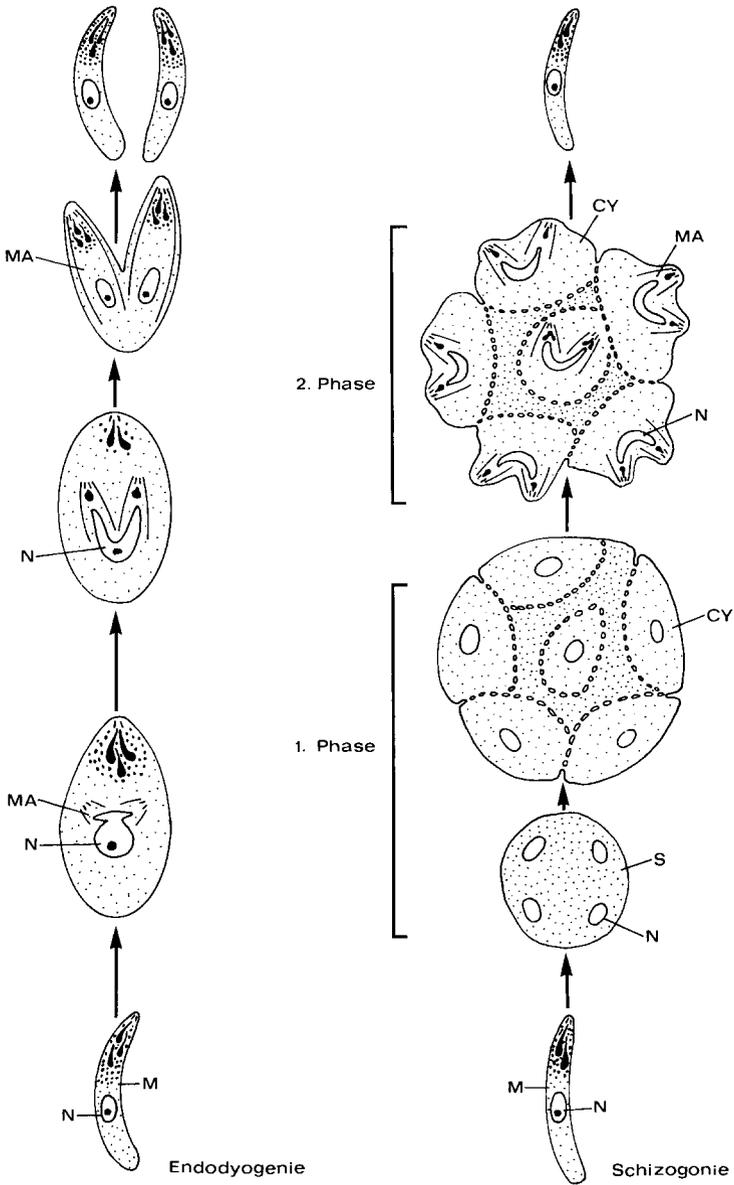


Abb. 10. Schematische Darstellung der Endodyogenie (*Frenkelia spec.*) und der Schizogonie (*Eimeria tenella*). Die erste Phase der Schizogonie führt über ein vielkerniges Stadium zur Cytomerenbildung. In der zweiten Phase entstehen durch einen Endodyogenie-Prozeß aus jeder Cytomere zwei Merozoiten

Abb. 10 zeigt den Entwicklungsprozeß der Endodyogenie von *Frenkelia* spec. und die beiden Entwicklungsphasen der Schizogonie von *E. tenella* in schematischer Darstellung.

### Diskussion

Die Endodyogenie wurde bisher für *T. gondii*, *B. jellisoni*, *S. tenella* und *Frenkelia* spec. beschrieben (Gavin *et al.*, 1962; Wildführ, 1966; Sheffield, 1966; Ogino, Yoneda, 1966; Sénaud, 1967, 1969; van der Zypen, Piekarski, 1967; Sheffield, Melton, 1968; Kepka, Scholtyseck, 1970; Vivier, 1970). In der vorliegenden Arbeit wurde am Beispiel von *Frenkelia* über weitere Ergebnisse zum Ablauf dieser Vermehrungsweise berichtet. Die Kenntnis von den Vorgängen während der Tochterzellbildung von *Frenkelia* — bisher bekannt als Kernteilung mit simultaner Differenzierung von zwei Merozoiten — ist um folgende neue Ergebnisse erweitert:

1. Während der einzigen Kernteilung im Metrocyten bildet sich am apikalen Kernpol eine exzentrische Kernspindel mit vier Centriolen im benachbarten Cytoplasmabereich;

2. die gesamte Pellikula der Mutterzelle geht in den Pellikulae der Tochterzellen auf.

Die Schizogonien bei *E. stiedae* und *E. tenella* verlaufen in zwei Entwicklungsabschnitten, von denen der zweite mit dem Prozeß der Endodyogenie identisch ist. Nach diesen Ergebnissen ist anzunehmen, daß dieser Entwicklungsmechanismus auch bei den Schizogonien anderer Sporozoengruppen vorausgesetzt werden kann.

Bei einigen Coccidien sind während der Schizogonien Endodyogenie-ähnliche Prozesse beschrieben worden, so bei *E. intestinalis* (Snigirevskaya, 1969) und *E. callospermophili* (Roberts *et al.*, 1970). Diese Vermehrung wurde von den letztgenannten Autoren als „innere Schizogonie“ bezeichnet. Die jetzt gemachten Beobachtungen an *E. tenella* sind ähnlich wie die Vorgänge bei *E. callospermophili*, d. h. die Merozoiten entstehen im Inneren der Schizonten. Ein ähnlicher Vermehrungstyp wurde bei Schizogoniestadien von *T. gondii* aus Epithelzellen des Dünndarmes der Katze beschrieben und Endopolygenie benannt (Piekarski *et al.*, 1971). Innere Schizogonie, Endopolygenie sowie die Prozesse, die während der Schizogonie bei *E. tenella* und *E. stiedae* ablaufen, sind im Prinzip als adäquate Vorgänge zu betrachten. Unterschiede werden bei den verschiedenen Sporozoengruppen, -gattungen und -arten sicher vorhanden sein. Diese dürften sich aber wohl in erster Linie auf die mehr oder weniger unvollständige Cytomerenbildung beziehen. Wichtig scheint zu sein, daß die letzte Teilung jedes Schizontenkernes mit einer Merozoitenbildung einhergeht, unabhängig davon, ob der Kern durch Spaltraumsysteme vom mütterlichen Cytoplasma abgetrennt ist oder

nicht. Dabei ist von geringerem Interesse, ob die Merozoitendifferenzierung im Innern der Schizonten oder an deren Peripherie erfolgt.

Die vorliegenden Ergebnisse zur Endodyogenie und Schizogonie ermöglichen eine Begriffsbestimmung dieser beiden asexuellen Vermehrungsweisen und zeigen, in welchem Verhältnis sie zueinander stehen. Die Endodyogenie erscheint demnach als ursprünglicher Typus, die Schizogonie als abgeleitet; sie dürfte als eine durch vorgeschaltete Kernteilungen und eine Cytomerenbildung erweiterte Endodyogenie aufgefaßt werden.

Die Befunde an *Frenkelia* spec. und den beiden untersuchten *Eimeria*-Arten berechtigen zu der Aussage, daß die Endodyogenie die grundlegende Vermehrungsform nicht nur der Coccidien, sondern wahrscheinlich aller Sporozoen ist.

#### Abkürzungen

AMP	Besondere Ausformung der Mikropore	MP	Mikropore
C	Conoid	N	Nukleus
CE	Centriol	NF	Intranukleäre Fibrillen (Spindelapparat)
CW	Cystenwand	NM	Begrenzungsmembran des Nukleus
CY	Cytomer	NP	Kernporus
ER	Endoplasmatisches Retikulum	NU	Nukleolus
FI	Spaltraum (Fissure)	OM	Äußere Membran der Pellikula
GO	Golgi-Apparat	P	Polring
GS	Grundsubstanz	PE	Pellikula
HC	Wirtszelleytoplasma	PM	Die beiden inneren Pellikulamembranen der entstehenden Tochterzellen
IF	Intravakuoläre Falten	PO	Rhoptrien (Paariges Organell)
IM	Innere Membranen der Pellikula (2 Elementarmembranen, die miteinander verhaftet sind)	PP	Hinterer Polring
IN	Invagination	PV	Parasitophore Vakuole
LC	Lakunensysteme	S	Schizont
LM	Begrenzungsmembran des Parasiten	SP	Spindelpol
M	Merozoit	T	Tochterzelle
MA	Merozoitenanlage	TV	Dickwandiger Vesikel
MI	Mitochondrium	V	Vesikel
MIH	Mitochondrium der Wirtszelle	VP	Vorderer Pol
MN	Mikronemen	Z	Innenzylinder der Mikropore

#### Literatur

- Colley, F. C., Zaman, V.: Observations on the endogenous stages of *Toxoplasma gondii* in the cat ileum. II. Electron microscope study. Southeast Asian J. Trop. Med. Publ. Hlth **1**, 465—480 (1970)
- Gavin, M. A., Wanko, T., Jacobs, L.: Electron microscope studies on reproducing and interkinetic toxoplasma. J. Protozool. **9**, 222—234 (1962)
- Goldman, M., Carver, R. K., Sulzer, A. J.: Reproducing of *Toxoplasma gondii* by internal budding. J. Parasit. **44**, 161—171 (1958)

- Kepka, O., Scholtyseck, E.: Weitere Untersuchungen der Feinstruktur von *Frenkelia* spec. (= M-Organismus, Sporozoa). *Protistologica* **6**, 249—266 (1970)
- Ogino, N., Yoneda, C.: The fine structure and mode of division of *Toxoplasma gondii*. *Arch. Ophthal.* **75**, 218—227 (1966)
- Piekarski, G., Pelster, B., Witte, H. M.: Endopolygenie bei *Toxoplasma gondii*. *Z. Parasitenk.* **33**, 122—130 (1971)
- Roberts, W. L., Hammond, D. M., Anderson, L. C., Speer, C. A.: Ultrastructural study of schizogony in *Eimeria callospermophili*. *J. Protozool.* **17**, 584—592 (1970)
- Scholtyseck, E.: Elektronenmikroskopische Untersuchungen über die Schizogonie bei Coccidien (*Eimeria perforans* und *E. stiedae*). *Z. Parasitenk.* **26**, 20—50 (1965)
- Sénaud, J.: Contribution à l'étude des sarcosporidies et des toxoplasmes (Toxoplasmea). *Protistologica* **3**, 167—232 (1967)
- Sénaud, J.: Ultrastructure des formations kystiques de *Besnoitia jellisoni* (Frenkel, 1953) Protozoaire, Toxoplasmea, parasite de la souris (*Mus musculus*). *Protistologica* **5**, 413—430 (1969)
- Sheffield, H. H.: Electron microscope study of the proliferative form of *Besnoitia jellisoni*. *J. Parasit.* **52**, 583—594 (1966)
- Sheffield, H. G., Hammond, D. M.: Fine structure of first-generation merozoites of *Eimeria bovis*. *J. Parasit.* **52**, 595—606 (1966).
- Sheffield, H. G., Hammond, D. M.: Electron microscope observations on the development of first-generation merozoites of *Eimeria bovis*. *J. Parasit.* **53**, 831—840 (1967)
- Sheffield, H. G., Melton, M. L.: The fine structure and reproduction of *Toxoplasma gondii*. *J. Parasit.* **54**, 209—226 (1968)
- Sheffield, H. G., Melton, M. L.: *Toxoplasma gondii*: Transmission through faeces in absence of *Toxocara cati* eggs. *Science* **164**, 431—432 (1969)
- Sheffield, H. G., Melton, M. L.: *Toxoplasma gondii*: The oocyst, sporozoite and infection of cultured cells. *Science* **167**, 892—893 (1970).
- Sjöstrand, F. S.: In: A. W. Pollister physical techniques in biological research, vol. 3. New York: Academic Press 1956
- Snigirevskaya, E. S.: Electron microscope study of the schizogony process in *Eimeria intestinalis*. *Acta protozool.* **7**, 57—70 (1969)
- Strout, R. G., Scholtyseck, E.: The ultrastructure of first-generation development of *Eimeria tenella* (Raillet and Lucet, 1891) in cell cultures. *Z. Parasitenk.* **35**, 87—96 (1970)
- Vivier, E.: Observations nouvelles sur la reproduction asexuée de *Toxoplasma gondii* et considération sur la notion d'endogenèse. *C. R. Acad. Sci. (Paris)* **271**, 2123—2126 (1970)
- Wildführ, W.: Elektronenmikroskopische Untersuchungen zur Morphologie und Reproduktion von *Toxoplasma gondii*. II. Mitteilung: Beobachtungen zur Reproduktion von *Toxoplasma gondii* (Endodyogenie). *Zbl. Bakt., I. Abt. Orig.* **201**, 110—130 (1966)
- van der Zypen, E., Piekarski, G.: Die Endodyogenie bei *Toxoplasma gondii*. Eine morphologische Analyse. *Z. Parasitenk.* **29**, 15—35 (1967)

Prof. Dr. E. Scholtyseck  
 Abteilung für Protozoologie  
 Zoologisches Institut der Universität  
 Poppelsdorfer Schloß  
 D-5300 Bonn  
 Bundesrepublik Deutschland