

M E M Ó R I A S
DO
INSTITUTO OSWALDO CRUZ

Tomo 69

Fascículo 2

1971

VORGAENGE IM OOZYTENKERN VON
NASUTITERMES sp.^{1*}

RUDOLF BARTH

Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, Guanabara

(Mit 31 Abbildungen im Text, 1 Graph. und 2 Tafeln)

- I. Einleitung
- II. Material und Methoden
- III. Mikroskopische Untersuchungen
 - a) Germarium
 - b) Praesynaptische Zone
 - c) Synaptische Zone
 - d) Postsynaptische Zone
 - e) Zone der ungeordnet liegenden Oozyten
 - f) Zone der reihenartigen Anordnung
 - g) Zonen der Dotter-und Chorionbildung
 - h) Die Nukleolarsubstanz
- IV. Zusammenfassung
- V. Resumo
- VI. Summary
- VII. Bibliographie

¹ Erhalten am 7 Oktober 1970.

* Trabalho do Laboratório de Entomologia do Departamento de Zoologia Médica do Instituto Oswaldo Cruz.

I. EINLEITUNG

Waehrend in den vorhergehenden Termitenstudien der Ovariolenstiel (1) desnaeheren beschrieben wurden, teilen wir in dieser Veroeffentlichung unsere Beobachtungen bezueglich der Vorgaenge im Oozytenkern mit, wobei sich ebenfalls einige Beobachtungen am Ooplasma als notwendig erwiesen. Die Hauptbeobachtungen wurden an den Ovarien von *Nasutitermes* sp. angestellt; zum Vergleich wurde, wie in den vorigen Arbeiten, auch *Syntermes dirus* herangezogen.

Die Einteilung der Ovariole in Zonen mit unterschiedlichen Entwicklungsereignissen in Oogonien und Oozyten wurde bereits von **Ahrens** (3, 4) und **Weesner** (5), sowie in wenig abgeaenderter Form von uns (2) beschrieben. Wir unterscheiden acht Zonen in den panoistischen Ovariolen der bearbeiteten Termitenarten, deren Kennzeichnung wir im folgenden zusammenfassend wiederholen, um die Darstellung der mitzuteilenden Beobachtungen zu erleichtern:

Im Germarium werden durch Vermehrungsteilungen aus den Urgeschlechtszellen die Oogonien gebildet, deren Kerne mit den somatischen Elementen in einem gemeinsamen Syncytium liegen und die sich im Halsteil des Germariums, dem Wachstumsdruck nachgebend, so sehr anhaeuften, dass es hier zu voruebergehenden Kerndeformierungen kommt. In der Zone der Prae-Prophase (vorsynaptische Zone) bereiten sich die Kerne der jetzt individualisierten Oogonien auf die Prophasenvorgaenge der folgenden Zone vor. Im Abschnitt der Post-Prophase (postsynaptische Zone) erfolgt durch Aufloesen der Tetraden ein rueckwaerts gerichteter Schritt, d. h. der Uebergang zu einem hoch aktiven Interphasenstadium, das bis zur Bildung des legereifen Eis reicht und das wir in weitere vier Zonen einteilen. Diese sind gekennzeichnet durch schnelles Wachstum des Ooplasten und des Kerns; in der fuenften Zone liegen die jetzt als Oozyten zu bezeichnenden generativen Zellen ungeordnet zu mehreren auf dem Querschnitt der Ovariole, in der naechsten jedoch einzeln hinter einander. Nach Beendigung des Wachstums der Protoplasma-Masse erfolgt die Bildung der Dotterschollen und zuletzt die des Chorions.

II. MATERIAL UND METHODEN

Zur Untersuchung wurden aus Termitenbauten entnommene aktive Koeniginnen, gelegentlich auch schwaermende weibliche Geschlechtstiere benutzt. Wir suchten moeglichst kleine Bauten auf, da bei

den grossen volkreichen aelteren, besonders von *Syntermes dirus*, die tief in den Boden graebt, das Auffinden der Koeniginnenzellen sehr erschwert ist. Beide Arten sind in Rio de Janeiro sehr haeufig, besonders *Nasutitermes* sp. die das Grasland von Itacolomi (Ilha do Governador) mit zahlreichen Bauten bewohnt.

Die mikroskopischen Praeparate wurden mit den herkoemmlichen histologischen Methoden hergestellt und abgebildet. Lebende isolierte Ovariolen wurden in physiologischer Insektenloesung (0,7% KCl + 0,3% NaCl) beobachtet.

III. MIKROSKOPISCHE UNTERSUCHUNGEN

a) Germarium

Die generativen Kerne (Fig. 1, OK; 2a), d. h. die Kerne der Oogonien, liegen im eigentlichen Germarium eingeschlossen in ein syncytiales Grundplasma, in dem auch die somatischen Zellkerne (Fig. 2b), d. h. die der zukuenftigen Follikelzellen, mit eingebettet sind (Fig. 1, FK; Foto 1). Diese (FK) unterscheiden sich von jenen (OK) durch geringeren Chromatingehalt und einen sehr kleinen Nukleolus sowie durch ihre unregelmassige Gestalt, waehrend die Oogonienkerne ovoid oder sphaerisch sind. Auch sind die Chromatin-koerper der somatischen Kerne mehr wandstaendig als in den generativen Zellkernen.

Das Germarium wird von einer zelligen Membran (Fig. 1, MM) eingehuellt, die distalwaerts in die epitheliale, locker der Ovariolen anliegende gefensterte Membran uebergeht, proximalwaerts sich jedoch aufteilt, wobei ein Teil die Scheidewand (PD) zwischen Germarium und Terminalfilament (TF), der andere die aeussere Umhuellung (RE) dieses Filamentes bildet. Hinter der Scheidewand (PD) liegt der "Innenzylinder" des Endfadens, der die syncytiale Plasmaachse des Fadens darstellt, in dem bei *Nasutitermes* sp. eine Serie von 9 subsphaerischen, proximalwaerts mehr spindelfoermigen, relativ grossen Zellkernen (TFK) liegt. Diese Bildung wird umhuellt von der proximal gerichteten Fortsetzung der aeusseren Germarium-Umhuellung, in der sich flachscheibenfoermige Kerne (REK) finden. Nach 40 - 45 μ von der Scheidewand endet der Innenzylinder und der Endfaden wird ausschliesslich von der erwahnten aeusseren, kernhaltigen Membran gebildet, die jetzt zu einem 10-12 μ dicken, stark laengsgerichteten Faden umgebildet worden ist, in dem in immer groesser werdenden Abstaenden lang spindelfoermige Kerne liegen.

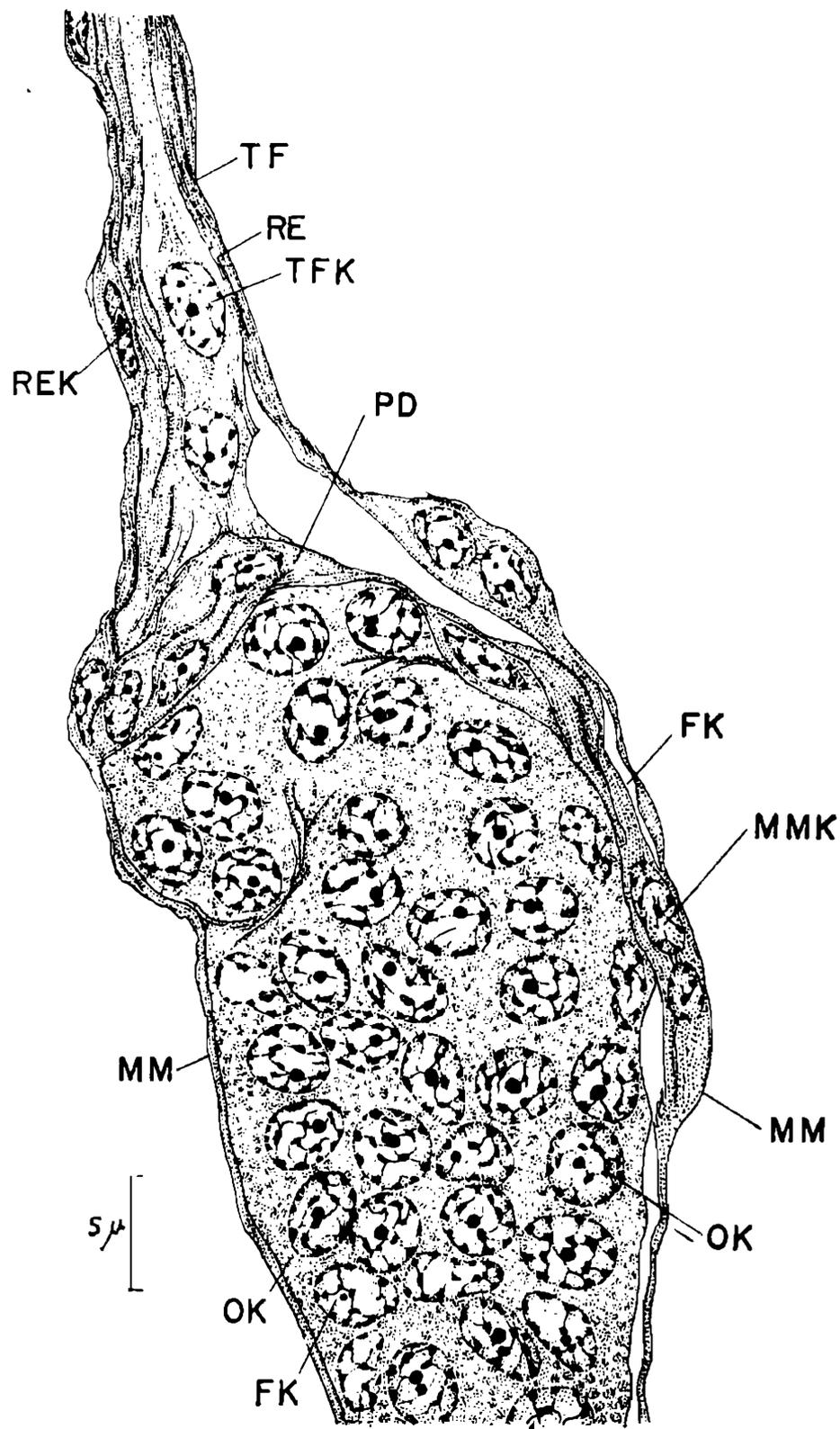


Fig. 1

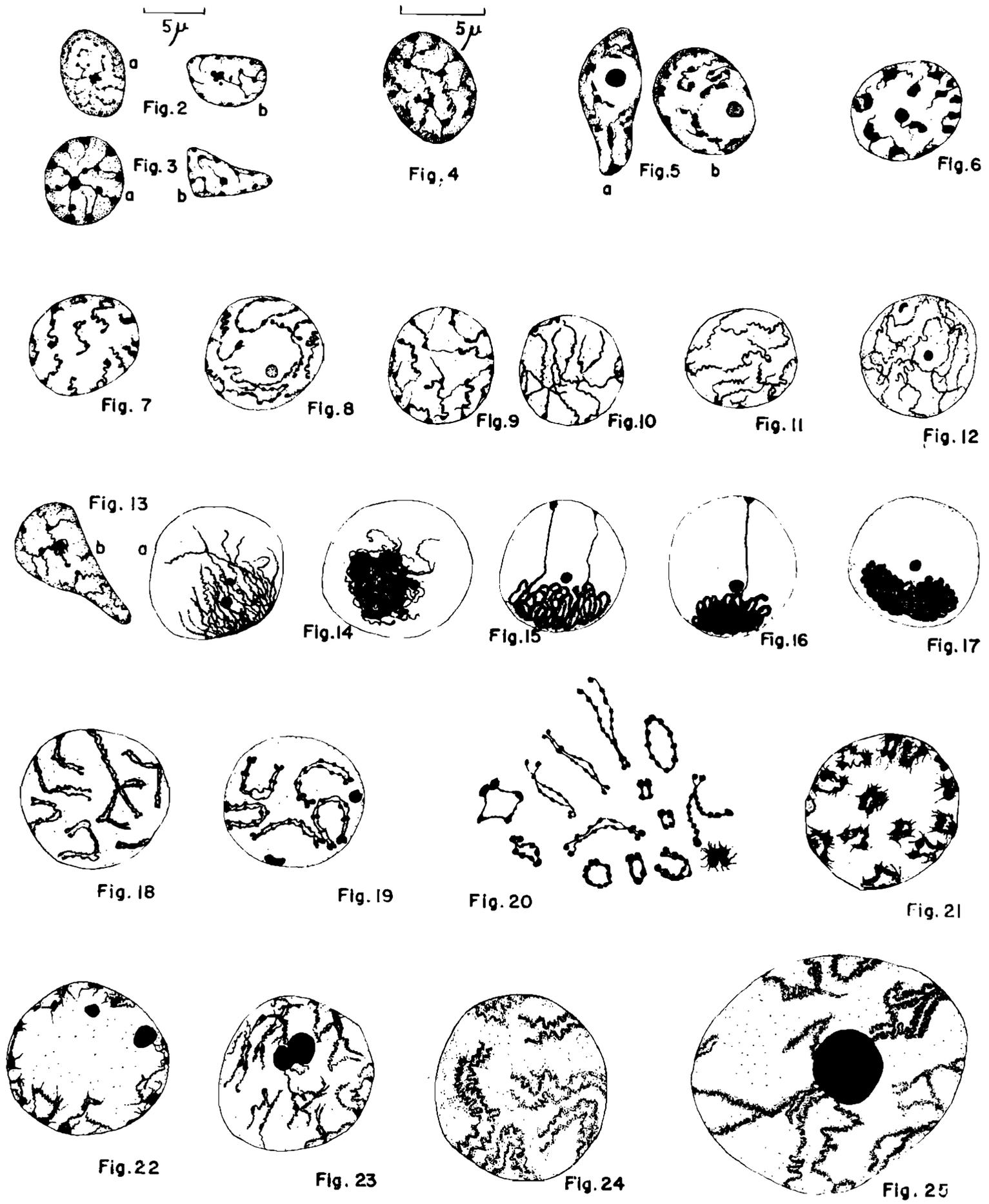
Fig. 1 — Germarium und Endfaden von *Nasutitermes* sp. im Laengsschnitt. FK — somatischer Kern; MM — zellulaere Huellmembran und MMK — ihre Kerne; OK — generative Kerne; DP — Scheidewand zwischen Ovarirole und Endfaden; RE — Rindenschicht des Endfadens und REK — deren Kerne; TF — Endfaden und TEK — dessen Kerne.

Weesner (1955) haelt den von uns bezeichneten Innenzylinder des Anfangsteils des Endfadens als noch zur Ovarirole gehoerend. "Immediately posterior to the terminal filament lies a strand of small cells with round nuclei They fill the entire ovarirole at this level and are enclosed by the tunica propria". Eine Scheidewand hat diese

Autorin bei *Tenuirostritermes tenuirostris* nicht festgestellt. Dasgleiche gilt fuer die Darlegungen ueber *Termes redemanni* in der Monographie von **Ahrens** (1935). "Zwischen den quergelagerten, laenglichen Elementen des Endfadens und den gleichmaessig verteilten, polymorphen, somatischen Elementen der Endkammer findet infolge allmaehlicher Aenderung ihrer Anordnung und Gestalt ein kontinuierlicher Uebergang statt". Beide Autoren sprechen von einer Umhuellung des Germariums und des Endfadens durch eine Tunica propria. Einer solchen, die, wie **Ahrens** schon erwaeht, einer Basalmembran histologisch vergleichbar ist, mangeln aber die Zellkerne, da diese Membran ein Ausscheidungsprodukt der Basis epidermaler (hypodermaler) Zellen darstellt. Die aeussere Umhuellungsmembran des Germariums zeigt aber deutlich Kerne und geht in die lockere peritoneale Umhuellung der Ovariole ueber. Dagegen liegt zwischen dieser Membran und dem Inhalt des Germariums eine feine Tunica propria, die wegen ihrer geringen Staerke von etwa 0,5-1 μ nur auf exakten Querschnitten oder auf medianen Laengsschnitten optisch isolierbar ist. Erst unterhalb aber deutlich Kierne und geht in die lickere peritoneale Umhuellung von der Ovariole abloest und entfernt (Tab. I, Foto 1), ist die Tunica propria gut erkennbar die einzige Umhuellung der Ovariole bis zu deren Stiel. Diese Stelle entspricht derjenigen, an der die somatischen Zellkerne sich an der Peripherie staerker ansammeln, beziehungsweise die ersten Follikelzellen sich aus dem allgemeinen Syncytium herauszubilden beginnen.

Vermehrungsteilungen der Oogonien werden nicht sehr haeufig gefunden (Tab. 1, Foto 2, a und b; 3, a und b), da im Vergleich mit Testikelfollikeln die Anzahl der generativen Zellkerne in Ovariolen nur gering ist. Der Wachstumsdruck, verursacht durch Kernvermehrung und wahrscheinlich Zunahme des syncytialen Protoplasmas, zwingt die Oogonienkerne sich distalwaerts zu verlagern. So gelangen sie in den Halsteil. Hier erfahren zuerst die ebenfalls mitwandernden somatischen Kerne eine Deformierung (Fig. 3 b), hervorgerufen durch engere Lagerung der Oogonienkerne. Diese sind im Anfangsteil noch mehr oder weniger sphaerisch (Fig. 3 a; 4). Ihr Chromatin zeigt eine zunehmende Kondensierung. In der Mitte und am Ende des Halsteils werden sie ovoid oder gar spindelfoermig deformiert (Fig. 5 a). Der Nukleolus der fruehen Oogonienkerne ist, bis etwa zur Mitte der Halszone, nur wenig groesser als die Chromatinkoerner, dafuer aber dicht und stark basichromatisch. Im unteren Halsteil und beim Eintritt in die folgende vorsynaptische Zone waechst er jedoch schnell von 0,6-0,8 μ bis zu 2,0-2,3 μ Durchmesser an, dabei befreit er sich von

- Fig. 2 — a) Generativer Kern und b) somatischer Kern des oberen Germa-
riums.
- Fig. 3 — a) Oogonienkern und b) somatischer Kern aus dem Halsteil.
- Fig. 4 — Oogonienkern aus dem Anfang des Halsteils.
- Fig. 5 — Oogonienkerne aus der Mitte (a) und aus dem Endstueck des
Halsteils (b).
- Fig. 6 — Fruehe Prophase.
- Fig. 7 — Leptotaen.
- Fig. 8 — Entspiralisierung.
- Fig. 9 — Entspiralisierung.
- Fig. 10 — Spiremstadium.
- Fig. 11 — Vorbereitungsstadium zum Bukett (tangential).
- Fig. 12 — Verdichtung der Bukettfaeden.
- Fig. 13 — a) Meridionalschnitt durch das Bukett in seinem Anfangsstadium;
b) somatischer Kern in Hoehe der Bukettbildung.
- Fig. 14 — Bukett von unten gesehen.
- Fig. 15 — Bukett von zunehmender Verknaeuelung.
- Fig. 16 — Staerker verdichtetes Knaeuel.
- Fig. 17 — Bukettknaeuel in staerkster Verdichtung.
- Fig. 18 — Junges Diplotaen.
- Fig. 19 — Aelteres Diplotaen.
- Fig. 20 — Postsynaptische Doppelfaeden im Uebergang zu Tetraden.
- Fig. 21 — Pachytaen.
- Fig. 22 — Beginnender Zerfall der Tetraden.
- Fig. 23 — Staerkerer Zerfall der Tetraden.
- Fig. 24 — Entspiralisierende Tetraden (Tangentialschnitt).
- Fig. 25 — Stark entspiralisierte Tetraden, teilweise noch als Doppelemente zu
erkennen. Starkes Wachstum des Nukleolus.



den anheftenden Chromatinteilen und zeigt ein weniger dichtes Aussehen sowie eine schwächer werdende Basichromasie. Häufig liegt er in dieser Höhe in einem mehr oder weniger grossen Hof, so als wären durch Stoffaustritt alle anderen Kernkomponenten verdrängt worden (Fig. 5 a und b). Da sich diese Erscheinung in verschiedenen Ovariolen mehrerer Exemplare wiederholte, betrachten wir sie nicht als Fixierungsprodukt, sondern als wahrscheinliche Äusserung des Beginns der nun folgenden geringfügigen Reduktion des Nukleolus in der anschliessenden Zone.

b) **Praesynaptische Zone**

Der Beginn dieser Zone ist dadurch gekennzeichnet, dass die Oogonienkerne wiederum sphaerisch werden (Fig. 5 b und 6). Ausserdem konzentriert sich das Chromatin auf eine begrenzte Anzahl unregelmässig geformter Konkrete (Stadium der groben Chromatinkoerner) (Fig. 6). Ob die Anzahl dieser Körper der $2n$ -Zahl des Chromosomensatzes entspricht, lässt sich zwar vermuten, jedoch nicht optisch nachweisen. Der Nukleolus ist nun wesentlich kleiner geworden und nur schwach basichromatisch. Anschliessend beginnt das Chromatin sich zu entspiralisieren, so dass die Konkrete kleiner werden, wobei sich jedes in eine wechselnde Anzahl grösserer oder kleinerer Partikel zerlegt, die aber durch kräftige, teils gewundene Fäden verbunden bleiben (Fig. 7 bis 9). Auf diese Weise entsteht aus jedem groben Chromatinkorn der Figur 6 ein solcher Faden. Je älter die Zelle wird, desto feiner ziehen sich die Fäden des Chromatins ihres Kernes aus; sie liegen anfangs in der peripheren Zone (Fig. 7 und 9 sind Tangentialschnitte, Fig. 8 ist ein Äquatorialschnitt durch den Kern, in dem der leicht reduzierte Nukleolus erscheint), später (Fig. 10 und 11) dringen sie auch in das Kernzentrum ein. Mit dem Aussehen des Kernes in der Figur 12 ist das häufig als "Spirem" bezeichnete Höchststadium der Entspiralisierung des Chromatins erreicht. Vermehrungsteilungen der Oozyten treten noch am Ende der vorsynaptischen Zone auf, selbst dann noch, wenn benachbarte Kerne schon zur Bildung der groben Chromatinkörperchen geschritten sind (Fotos 2 und 3 a).

Die somatischen Kerne durchlaufen nicht diese Veränderungen, sondern nehmen nur stetig an Volumen zu, wobei jedoch auch ihre Chromatinmasse erhöht wird (vergleiche Fig. 2 b und 3 b mit Fig. 13 b).

c) **Synaptische Phase**

Die Chromatinfäden legen sich jetzt mit einem ihrer Enden gemeinsam in einem Pol an die Kernmembran (Fig. 13 a), so dass die freien Enden wie ein Büschel in den Kernraum reichen. Figur 14 zeigt dieses Stadium von der betreffenden Polseite aus gesehen. In der nächsten Phase biegen auch die freien Enden um 180° um, so dass jeder Faden nun eine Schleife bildet (Fig. 15). Bei dieser Gelegenheit scheint die Parallelkonjugation der Homologen zu erfolgen, denn die Schleifen sind in diesem Stadium gut erkennbar doppelt so breit wie im Anfang der Knäuelbildung (vergleiche Fig. 13 a mit 15); auch erscheinen die kleinen Chromatinkonkrete gedoppelt.

Bei der Schleifenbildung bleiben ein oder zwei, selten auch drei Fäden in der Bewegung zurück (Fig. 15 und 16; Tab. II, Foto 13); sie durchqueren den gesamten Kernraum und scheinen sich an der dem Knäuel gegenüber liegenden Stelle an der Kernwand festzuheften, wobei eine mehr oder weniger deutliche Verdickung an der Berührungsstelle erscheint. Diese Fäden könnten in gewisser Weise als heterokinetisch bezeichnet werden; sie haben jedoch nichts mit dem Heterochromosom zu tun. Dieses, von länglicher, leicht gebogener Form, liegt, wie der weiterhin erhaltene Nukleolus, in oder am Rande des Knäuels (Fig. 15 und 16); dabei zeigt sich um das heterochromatische Körperchen immer ein heller Hof, der am Nukleolus nicht in Erscheinung tritt. Diese eben charakterisierten Fäden biegen aber bald schon mit ihren distalen Enden ebenfalls zur Schleifenbildung ein, so dass im Kern jetzt ein geschlossenes Knäuel liegt (Fig. 17), begleitet vom Nukleolus und dem Heterochromosom, das auch bei stärkerer Differenzierung des Eisenhaematoxylinlackes tiefschwarz (wie der Nukleolus) erscheint, während die Chromatinmasse zu einem Hellbraun aufgehellt wird.

d) **Postsynaptische Zone**

Anschließend löst sich das Knäuel in eine Anzahl von Doppelfäden aus (Fig. 18). Zahlreiche Zählungen an ganz erhaltenen Kernen zeigten, dass die Anzahl der Doppelfäden etwa der Hälfte der Spiremfäden (Fig. 12) oder der groben Chromatinkoerner der vorsynaptischen Zone entspricht. Die Zählung der Spiremfäden trifft auf Schwierigkeiten, da sie sehr fein sind und ihre verworrene Lage eine Individualisierung nur unsicher zulässt (Fig. 11). Die Fäden verkürzen sich (Fig. 19), wobei sie selbst dünner werden,

während die kleinen Chromatinkörperchen auf ihnen, die vorher kaum sichtbar waren (Fig. 18), anwachsen und wie Perlen auf einer Schnur nun deutlicher erscheinen (Fig. 19). Heterochromosom und Nukleolus bleiben unverändert erhalten.

Verkürzung und Verdickung der einzelnen Elemente werden fortgesetzt, bis es zur Ausbildung typischer meiotischer Tetraden kommt (Fig. 20), die sich, wie Figur 21 als Tangentialschnitt des Kerns zeigt, in peripherer Richtung verlagern. Der Nukleolus verändert sich nicht; das Heterochromosom legt sich zwischen den wandständigen Tetraden eng der Kernmembran an (Fig. 21).

Mit der Bildung der Tetraden ist die Prophase beendet. Streng genommen ist die Phase der Tetradenbildung nicht ganz vollständig; sie endet zumeist vor Beendigung der Verdichtung auf den in Figur 21 gezeichneten Stadien. Eine verdichtete Tetrade, wie die in Figur 20 (unten rechts) wiedergegebene, ist nur sehr selten zu beobachten.

Einzelne dieser Schritte lassen sich auf dem Foto 1 der Tafel I erkennen.

Trotz der vereinzelt zu beobachtenden Vermehrungsteilungen der Oogonien gelang es nicht auf Schnitten die Anzahl der $2n$ -Chromosomen festzustellen, da die Chromosomen der Metaphase in der Äquatorialplatte sehr dicht gepackt liegen. Für die Quetschmethode ist die Zahl der Teilungen zu gering. Wesentlich leichter ist die Feststellung der diploiden Chromosomenzahl in den Regenerationszellen der Drüse des Ovariolenstiels, wo allerdings ebenfalls die Lagerung der Chromosomen in der Äquatorialplatte äußerst dicht ist. In den Regenerationsnestern dieser Drüse (Taf. I, Foto 4) sind Mitosen häufig und es gelang unschwer Prophasenzellen im Pachytaen zu finden, die eine Zählung der noch über das ganze, relativ umfangreiche Kernvolumen verteilten, sich noch verdichtenden, aber schon völlig ausgebildeten Chromosomen zu zählen. Figur 26 gibt ein Beispiel; die Chromosomen wurden zeichnerisch in die Sagittalebene des Kerns, dessen Membran noch erhalten ist, projiziert. Die diploide Anzahl der Chromosomen beläuft sich bei *Nasutitermes* sp. auf 35, wovon eins, wahrscheinlich das in Figur 26 mit X bezeichnete, das Heterochromosom ist. Die Nummerierung der Chromosomen in Figur 26 stellt lediglich einen Versuch dar, die Homologen zu identifizieren; da die Gruppen der stabchen- und hakenförmigen Elemente keine bedeutende Unterschiede in Grösse und Form zeigen, kann es nur bei einem solchen Versuch bleiben.

e) Zone der ungeordnet liegenden Oozyten

Diese Zone beginnt mit denjenigen Cozyten, in deren Kernen die Aufloesung der Tetraden einsetzt (Fig. 22); die Stelle entspricht der mit Pfeil gekennzeichneten im Foto 5 der Tafel I. Sie endet an dem Punkt, wo das letzte Mal auf dem Querschnitt 2 Oozyten liegen, durch Pfeil in Tafel II, Foto 9 markiert. Die Zone ist charakterisiert durch die anfangs schnelle Entspiralisierung der Tetraden, wobei der Kern ein stetiges Wachstum zeigt (Fig. 22 bis 24). Bei der weiteren Volumenzunahme des Kerns (Fig. 25) zerlegt sich das Chromatin weiterhin in sehr feine Straenge und sehr lockere Konkrete und verteilt sich ueber das ganze Kerninnere und die Innenwand (Fig. 25 und 27). Dabei ist, oft noch bis zu aelteren Kernen, eine gewisse Doppelstruktur, sowie eine Andeutung eines spiraligen Grundaufbaus der Konkrete (Taf. I, Foto 6) zu erkennen, deren Ursprung sich lueckenlos bis zu den Tetraden zurueckfuehren laesst.

Waehrend bis zur Tetradenbildung das Chromatin basichromatisch ist, schlaegt es im Augenblick der Aufloesung der Tetraden in oxychromatisch um; nur der Nukleolus und das Heterochromosom bleiben basichromatisch; eine Beobachtung, die die Befunde frueherer Autoren bestaetigt.

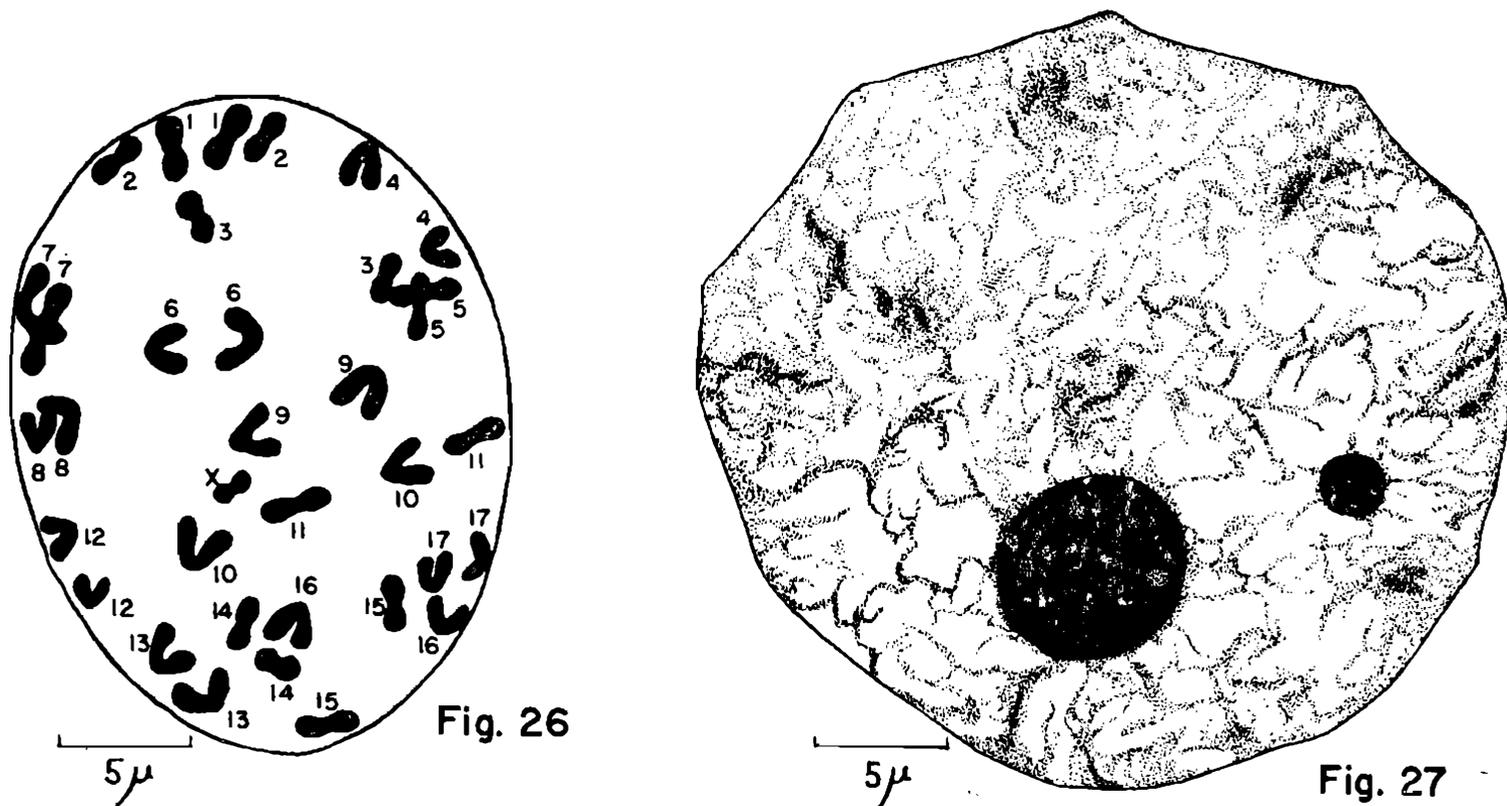


Fig. 26 — Kern einer Regenerationszelle der Ovariolenstieldruese im Pachytaen. Projektion aller Chromosomen auf die Sagitalebene. Die Zahlen stellen den Versuch dar, die Homologen zu kennzeichnen.

Fig. 27 — Oozytenkern im Beginn der Bildung der Dotterschollen im Ooplasma.

f) Zone der reihenartigen Anordnung

Die Zone beginnt, wo sich auf dem Querschnitt zum ersten Male eine einzige Oozyte findet (Taf. II, Foto 9 rechts vom Pfeil). Sie reicht bis zu derjenigen Oozyte, in deren Ooplasma die ersten sichtbaren Dotterkonkrete auftreten. Die Oozyten liegen anfangs quer rechteckig in der Ovariolen (Taf. II, Foto 9) und erwecken den Eindruck als seien sie durch den Wachstumsdruck, hervorgerufen durch die schnelle Volumenzunahme der Oozyten der vorhergehenden Zone, zusammengepresst worden. Später erscheinen sie quadratisch und von der Mitte dieser Zone an sind sie länger als breit. Wie zahlreiche Messungen an nicht fixierten Ovariolen zeigten, ist das Wachstum der Oozytenzellen im Anfang der reihenartigen Anordnung nur gering, später erst setzt schnellere Volumenvergrößerung ein. Auffallend ist aber, dass trotz der Zellverformung die sphaerische Form der Oozytenkerne immer bewahrt bleibt (Taf. II, Foto 9).

Die graphische Darstellung der Figur 32 zeigt die Wachstumskurven der Oozytenzellen, ihres Kerns und des Nukleolus in einer einzelnen Ovariolen. Die Kurven wurden in der Weise gewonnen, dass vom Germarium an bis zum Ende der postsynaptischen Phase im Verfolg der Laengsachse etwa jeder 10. Kern von der Synapsis an auch jede 10. Zelle ausgemessen wurden; es wurden in meridionalen Schnitten der mehr oder weniger stark ovalen Kerne aus dem grössten und kleinsten Durchmesser der Mittelwert in Mikrometer ermittelt. In der Zone der unregelmässigen Anordnung wurden diejenigen Zellen ausgesucht, die auf die Ovariolenlaengsachse bezogen in kontinuierlicher Reihenfolge lagen. Von der reihenartigen Anordnung an bis zum Schluss wurde jede Zelle ausgemessen, bis der Kern durch die sich entwickelnde Dottermasse so stark verformt wurde, dass eine einwandfreie Feststellung seines mittleren Durchmessers nicht mehr möglich war. Von der Nukleolarsubstanz wurde nur der Hauptnukleolus in Betracht gezogen, der besonders in älteren Zellen infolge Satellitenbildung einen mehr oder weniger stark wechselnden Durchmesser zeigt (Kurve III, rechts).

Die Kurve I des Zellwachstums spiegelt die anfangs schnelle Vermehrung des Ooplasmas wieder, die etwa bis zum Stadium 18 reicht; dann erfolgt ein Stillstand. Kurz darauf jedoch steigt das Volumen durch Eintritt von Reservestoffen (Fette, Dottersubstanz) erst langsam dann aber mit der Bildung der Dotterschollen (etwa ab Stadium 27) schnell zur endgültigen Grösse an. Die Kurve des Durchmessers der Nukleolen zeigt mehr oder weniger regelmässige

Schwankungen, der Groessengewinn ist anfangs schneller als in spaeteren Stadien. Die Zu- und Abnahme seiner Masse haengt offensichtlich mit dem rhythmischen Ausstoss von Nukleolarsubstanz zusammen (s. unten). Von besonderem Interesse ist fuer uns die Kurve des Kerndurchmessers, die einen fast linearen Anstieg zeigt und in keiner Weise von den Unregelmassigkeiten des Zellwachstums beeinflusst wird.

Um einen Begriff der Groessenzunahme von Zelle und Kern zu geben, massen wir Kern und Zelle der Stadium 7 und 37 aus :

	Stadium 7	Stadium 37	
Kernvolumen	555,41 μ^3	19 083,07 μ^3	= 34,38 fache vom Stadium 7
Zellvolumen mit Kern	1 766,39 μ^3	267 968,00 μ^3	= 151,73 fache vom Stadium 7
Prozentsatz des Kerns von der Zelle	32,01 %	7,12 %	
Protoplasmakoerper der Oozyte	1 210,98 μ^3	248 884,93 μ^3	= 205,52 fache vom Stadium 7
Prozentsatz des Kerns vom Protoplasmakoerper der Oozyte	45,86 %	7,66 %	

Das Wachstum der einzelnen Komponenten des Eifollikels, wie es zum Teil in den Kurven der graphischen Darstellung wiedergegeben ist, laesst sich auch aus der Tabelle I entnehmen.

g) Zonen der Dotter — und Chorionbildung

Da die Vorgaenge im Kern in diesen beiden Zonen die gleichen sind, werden in diesem Abschnitt beide Unterabteilungen gemeinsam besprochen.

Der Vorgang der Dotterbildung bleibt einer spaeteren Mitteilung vorbehalten. Der Oozytenkern dieser Zonen setzt sein linear ansteigendes Wachstum fort (Kurve II in Fig. 32). Das Zellvolumen steigt weiter schnell an. Es bilden sich, etwa vom Stadium 27 an, die ersten kleinen, 3-4 μ starken Dotterkugeln (Taf. I, Foto 8), die den Oozytenkern noch nicht in Wachstum und Gestalt beeinflussen. Erst wenn in spaeteren Stadien dieser Endzone der Ovariolen das Ooplasma im Zentralteil der Oozyte bis auf duenne Straenge, im peripheren Teil bis auf einen mehr oder weniger duennen Wandbelag reduziert ist (Taf. II, Foto 9) und die 30-50 μ dicken Dotterkugeln (Foto 10) den weitaus groessten Teil des Zellinneren in Anspruch nehmen, erleidet der Kern zuerst eine Verlagerung aus seiner zentralen Lage. Er liegt nun mehr der Zellmembran genaehert (Taf. II, Foto 10), wandert dann von den Dotterkugeln verdraengt an die Zellmembran, wo er bis zum reifen Ei in einem sehr flachen Protoplasmahuegel zu finden ist. Bei dieser Verlagerung macht er starke Formveraenderungen durch, wie aus den Taf I, Foto 8; Taf. II, 10 und 11 (letztere uebervergroessert) ersichtlich.

Diese Stadien erscheinen nicht mehr in der graphischen Darstellung der Figur 32, da ein Ausmessen des Kerns jetzt nicht mehr moeglich ist, da er zuletzt in der ausgewachsenen Oozyte nur noch eine breite, sehr flache Scheibe darstellt, deren Basis der Zellwand glatt aufliegt, deren Oberflaeche aber von zahlreichen Dotterschollen impriert ist. In solcher Form bleibt der Kern als Einheit bis zum reifen Ei bestehen; er laesst sich, wenn auch durch die Dottermassen sein Erkennen nicht immer leicht ist, bis zur letzten Oozyte der Zone der Chcrionbildung verfolgen und wurde ebenfalls in gereiften Eizellen, die bereits im Eileiter lagen, nachgewiesen (Fig. 28). Irgendwelche Anzeichen von Kernaufloesung waehrend der Wanderung aus der zentralen Lage in die periphere Position und von Neubildung des Kerns im Wandplasmabelag, wie sie von Ahrens (1935, pg. 259) an *Termes redemanni* beobachtet wurden, konnten von uns in keinem Falle gefunden werden: Die "pseudopodienfoermigen Auslaeufer" der Kernreste, die Ahrens erwaeht, sind nichts anderes als Ausdehnungen des intakten Kerns, die von den wachsenden Dotterelementen erzwungen wurden, die aber immer die Kernmembran erkennen lassen.

h) Die Nukleolarsubstanz

Ein besonderes Interesse verdient die Nukleolarsubstanz waehrend der Entwicklung der Oozyten, besonders ihre Gegenwart waehrend der Prophase.

Im Germarium ist die Nukleolarsubstanz lediglich als ein kompaktes, sphaerisches Koerperchen von 0,7 - 0,9 μ Durchmesser vorhanden, das staerker basichromatisch ist als das Chromatin (Fig. 2a). Zu Beginn des vorsynaptischen Wachstums des Oozytenkerns nimmt sein Durchmesser ebenfalls zu, wobei seine Affinitaet zu Haematoxylinen voruebergehend nachlaesst (Taf. II, Foto 12). Im Anfang der eigentlichen Prophase erleidet der Nukleolus wiederum eine Verdichtung, wird aber nicht aufgeloesst, wie es sonst bei mitotischen und meiotischen Teilungen vor der Spindelbildung der Fall ist. Auch waehrend Synapsis und den spaeteren Diplotaen- und Diakinese-Stadien bleibt er neben dem kommafermigen Heterochromosom erhalten (Fig. 13-17 und 19; Taf. II, Foto 13-15). Die Existenz des Nukleolus in der Synapsis wurde von Ahrens (1935) schon erwaeht: "Neben der Chromatinansammlung ist in der hellen "Vakuole" (i.e. Oozytenkern — d. Vf.) fast immer der rundliche Nukleolus festzustellen." Diese Tatsache gibt zu vermuten, dass die vorsynaptische Auflockerung des Nukleolus und sein Weiterbestehen in Synapsis und Postsynapsis die zu erwartende Bildung einer meiotischen Spindel unterbindet.

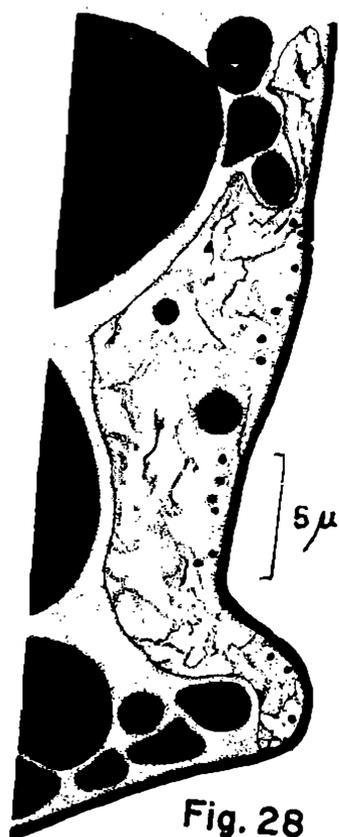


Fig. 28

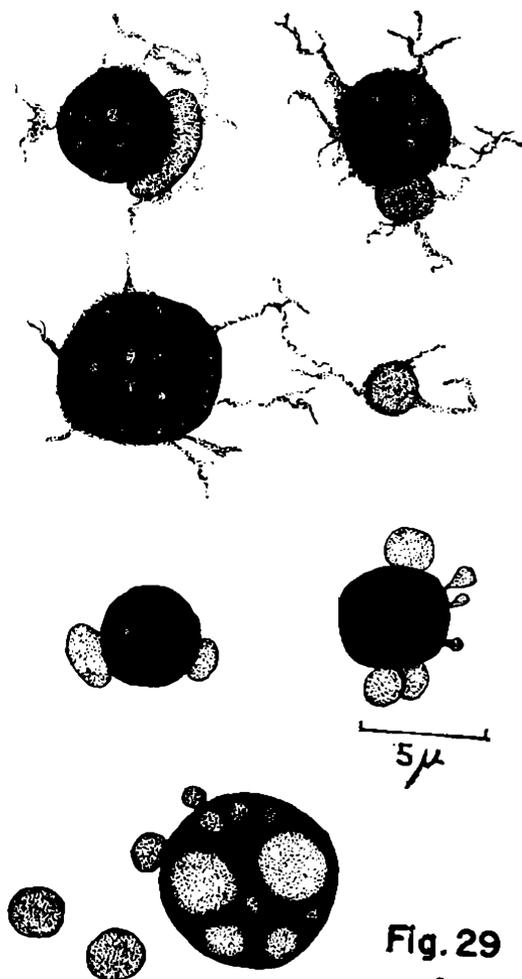


Fig. 29

Fig. 28 — Kern einer Oozyte im Eileiter; Kern fast scheibenfoermig, wandstaendig.

Fig. 29 — Nukleolen aus 6 verschiedenen Kernen zur Zeit der Dotterbildung in verschiedenen Stadien des Satelitten-Ausstosses.

Waehrend der Aufloesung der Tetraden waechst der Nukleolus bis auf etwa $4\ \mu$ Durchmesser an. Dabei erscheint er zeitweise als einziger Nukleolarkoerper des Kerns, zeitweise aber schnuert er groessere oder kleinere Koerper ab (Fig. 22, 23; Foto 16) oder teilt sich in zwei Haelften (Foto 17). Vor jeder Abschnuerung zeigt er regelmaessig eine einzelne oder auch mehrere Auflockerungen in seinem Inneren (Fig. 23). Dieser Wechsel zwischen einem anscheinenden Ruhestadium in Form einer kompakten Kugel (Fig. 29) und dem Abstossen von eigener Substanz nach vorhergehendem Auflockern von Partien seines Inhalts wird immer deutlicher, je mehr sich die Oozyte der Dotterbildung naehert oder gar in dieses Stadium eintritt. So zeigt die Figur 27 den aequatorialen Schnitt eines Kerns im Anfang der Dotterbildung, wo der Nukleolus einen Satellitenkoerper abgeschnuert hat, waehrend seine verschiedenen Auflockerungszonen im Innere auf weitere Abschnuerungen schliessen lassen. In den beiden Restteilen desselben Kerns auf den Nachbarschnitten wurden keine weiteren Nukleolarkoerperchen gefunden.

In der Figur 29 sind die Nukleolen aus 6 verschiedenen Oozytenkernen waehrend der Dotterbildung dargestellt, die alle in stark aktiver Absonderung von Satellitenkoerperchen sind. Diese sind anfangs so

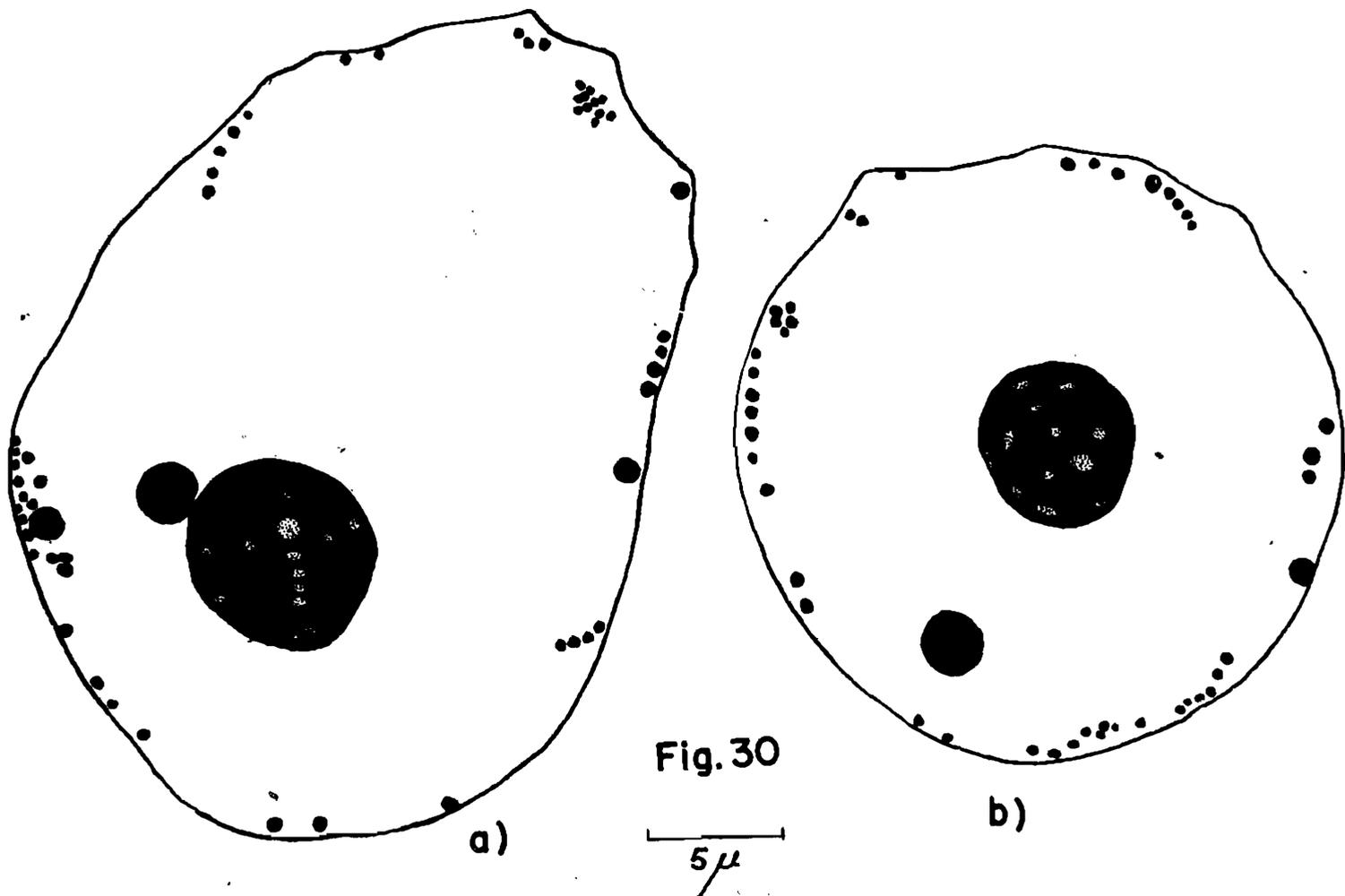


Fig. 30 — a und b. Oozytenkerne zur Zeit aktivster Dotterbildung, nur die Nukleolarsubstanz des medianen Schnittes gezeichnet.

aufgelockert wie die Auflockerungen im Inneren des "Mutternukleolus"; kurz nach dem Austritt jedoch verdichten sie sich maximal und wandern zur Kernperipherie (Taf. II, Foto 18), wo sie sich nach und nach verlieren. Cytologisch war es uns nicht moeglich, ihr weiteres Schicksal zu verfolgen, naemlich ob sie im Kern aufgeloesst werden und dort verbleiben oder ob sie aufgeloesst oder in Substanz in das Ooplasma uebertreten. Figur 30 zeigt die hohe Anzahl von Satellitenkoerpern in den optischen Mittelebenen von etwa $2\ \mu$ Dicke zweier verschiedener Kerne in fortgeschrittener Dotterbildung, dagegen die Figur 31 die Projektion aller Nukleolarsubstanz eines einzelnen Kernes (aus drei sich folgenden Schnitten) in die Zeichenebene.

In einigen guenstig geschnittenen Kernen stellten wir die Durchmesser des Mutternukleolus und der Satellitenkoerper fest und berechnete deren Inhalt um festzustellen, in welchem Verhaeltnis das Volumen der Nukleolarsubstanz zu dem des Kerns (nicht der Chromatinmasse) stand. Es ergab sich, wie aus der Tabelle 2 hervorgeht, dass dieses Verhaeltnis sich nur in engen Grenzen bewegt, naemlich zwischen 2,07% und 3,45%, im Mittel um 2,65%, und dieses in Zellen mit nur einen Nukleolus oder mit einem Mutternukleolus und 4, 6 oder sogar 23 Satellitenkoerpern.

Die Bildung von Satellitenkoerpern des Nukleolus trafen wir noch in Kernen von Oozyten die, bereits mit kraeftigem Chorion versehen, sich schon im Eileiter befanden (Fig. 28). Hier lagen die Koerperchen

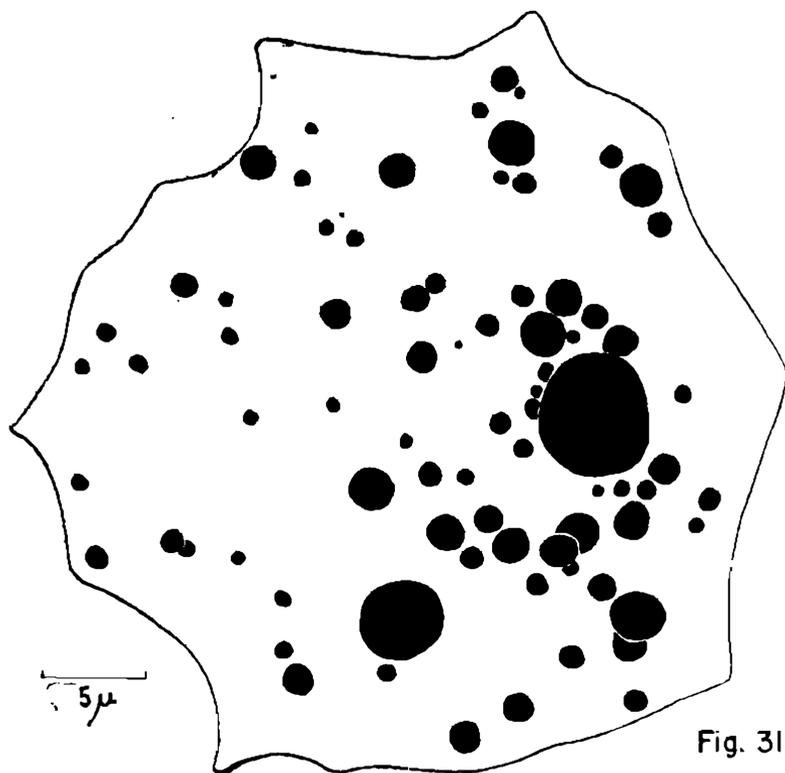


Fig. 31

Fig. 31 — Projektion der gesamten Nukleolarsubstanz eines Oozytenkernes zur Zeit der Dotterbildung auf die mediane Ebene; zusammengesetzt aus drei sich folgenden Schnitten.

ausschliesslich an der aeusseren Peripherie des Kerns. Auf dieser Hoehe kann die Nukleolarsubstanz keine Bedeutung mehr fuer Wachstum und Dotterbildung haben, sondern muss fuer eine andere Funktion im Leben der Zelle varantwortlich sein, ueber die nichts ausgesagt werden kann.

IV. ZUSAMMENFASSUNG

Es werden die Vorgaenge in den generativen Kernen des Ovariums der Termiten *Nasutitermes* sp. beginnend mit den juengsten Oogonien im Germarium bis zum reifen, nicht befruchteten Ei im Eileiter untersucht, wobei die Art *Syntermes dirus* zum Vergleich herangezogen wird. Es ergeben sich als Hauptresultate:

1. Germarium und Endfaden sind durch eine bindegewebige Scheidewand von einander getrennt, so dass die zentrale Kernreihe des letzteren nichts mit der Oogoniengeneration des Germariums gemeinsam hat.
2. Das Wachstum der Oogonien, Oozyten, Kernen und Nukleolen geht aus den Kurven der graphischen Darstellung der Figur 32 hervor.
3. In den Oogonienkernen laufen die typischen Chromatinveraenderungen einer meiotischen Teilung bis zum Tetradenstadium ab. Waehrend dessen erleidet der Nukleolus nur geringfuegige Veraenderungen, bleibt waehrend der ganzen Prophasenvorgaenge erhalten und waechst, waehrend sich die Tetraden wieder aufoesen, etwa im gleichen Verhaeltnis wie der Kern (Tabelle 2).
4. Der Oozytenkern wird nicht am Ende der Dotterbildung aufgeloeset und spaeter wieder in peripher Lage neu gebildet, wie von anderen Autoren mitgeteilt; er ist in jedem Stadium bis zum gereiften Ei im Ovidukt als solcher zu beobachten.
5. Es wird vermutet, dass die vorsynaptischen Vorgaenge des Nukleolus und sein Weiterbestehen in Synapsis und Postsynapsis die zu erwartende Bildung einer meiotischen Spindel unterbindet.

V. RESUMO

Modificações no núcleo do oócito de *Nasutitermes* sp.

Apresentamos, nesta comunicação, nossas observações sobre as modificações sofridas pela cromatina dos núcleos generativos dos ovários do cupim *Nasutitermes* sp., começando com os oogônios mais novos dentro do germário até o ovo maduro, ainda não fecundado, no ovidu-

to, considerando a espécie *Syntermes dirus* para fins comparativos. Obtivemos os seguintes principais resultados :

- 1 — Germário e filamento terminal são separados entre si por uma lamela separadora de tecido conjuntivo, de modo que a série central de núcleos do filamento não tem nada comum com as gerações de oogônios do germário.
- 2 — O crescimento dos oogônios e oócitos, dos núcleos e dos nucléolos é apresentado nas curvas do Gráfico da Figura 32.

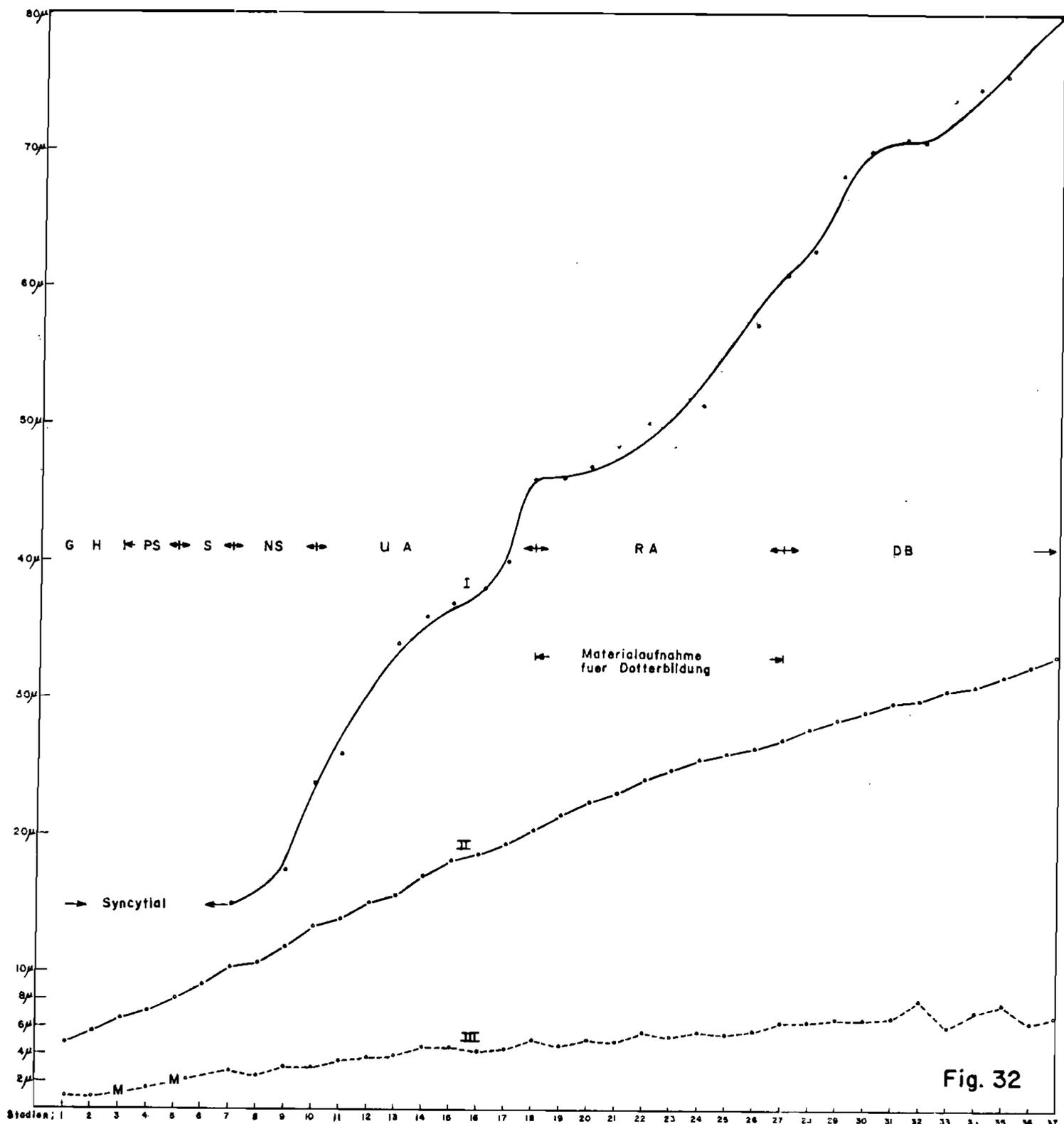


Fig. 32 — Wachstumskurven von Oozyten (I), Oozytenkernen (II) und deren Nukleolen (III). DB — Dotterbildung; G — Germarium; H — Hals-teil; M — Mitosen; NS — Postsynapsis; PS — Prosynapsis; RA — reihenartige Anordnung; S — Synapsis; UA — unregelmässige Anordnung.

- 3 — No interior dos núcleos dos oogônios ocorrem as modificações cromáticas típicas de uma divisão miótica, chegando até o estágio de tétrades. Durante este período, o nucléolo sofre apenas ligeiras modificações, mas não se dissolve e cresce, enquanto que as tétrades se desfazem, aproximadamente na mesma proporção como o núcleo (Tab. 2).
- 4 — No fim da formação do vitelo, o núcleo do ócito não é dissolvido e, mais tarde novamente formado, como comunicado por outro autor; conseguimos observá-lo, em forma integral, em todos os estádios até o ovo maduro dentro do oviduto.
- 5 — Supomos que as modificações, sofridas pelo nucléolo antes da sinapse e sua permanência durante sinapse e postsinapse, evitam a formação, a esperar, de um fuso meiótico.

VI. SUMMARY

Events in the nuclei of the oocytes from *Nasutitermes sp.*

In this report, there are represented the events in the generative nuclei of the termite *Nasutitermes sp.*, beginning with the youngest oogonium in the germarium up to the mature, but not yet fecundated egg in the oviduct, considering *Syntermes dirus* like comparative species. The principal results are the following;

1. The germarium and the terminal filament are separated from each other by a wall of conjunctive tissue, showing that the central series of nuclei of the filament has nothing to do with the generative nuclei of the germarium

2. The growing of the oogonia, oocytes, nuclei and nucleoli is represented in figure 32.

3. In the nuclei of the oogonia occur the typical modifications of the chromatin of a meiotic division up to the state of tetrades. During these events, the nucleolus suffers only little important modifications; it remains present during all the occurrences of prophase and continues its growing in the same proportion like the nucleus during the dissolution of the tetrades (tab. 2).

4. The nucleus is not dissolved on the end of the production of yolk, to be newly reformed, later on, in a peripheral situation, as described by other authors; in all stages up to the mature egg in the oviduct it may be observed with all its characteristics.

5. It is supposed that the pre-synaptic occurrences in the nucleolus and its permanence during synapsis and postsynapsis suppress the expected formation of a meiotic fuse.

VII. BIBLIOGRAPHIE

- BARTH, R., 1971, Histologische Beobachtungen am Ovariolenstiel von *Syntermes dirus* (Isoptera). *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 69(1) : 177-195, 8 Fig., 2 Graph., 2 Tafeln.
- BARTH, R., dieses Heft, Funktionshistologie der Follikelzellen im Ovar von *Nasutitermes* sp. (Isoptera). *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*.
- AHRENS, W., 1935a, Die Entwicklung des "Corpus luteum" bei Insekten nach Untersuchungen an *Termes redemanni*. *Z. mikrosk.-anatom. Forsch.*, 37: 467-500.
- AHRENS, W., 1935b, Monographie des weiblichen Geschlechtsapparates der Termiten (Nach Untersuchungen an *Termes redemanni*). *Jena. Z. Naturw.*, 70: 223-302, 11 Fig., 4 Tafeln.
- WEESNER, F. M., 1955, The reproductive system of young primary reproductives of *Tenuirostritermes tenuirostris* (Desneux), *Insectes Soc.*, 11: 323-345, 8 Fig.

TAFEL I

- Foto 1 — Laengsschnitt durch den oberen Teil einer Ovariole.
- Foto 2 — a) Vermehrungsmitose eines Oogoniums; b) staerker vergroesserter Ausschnitt. Aequatorialplatten in Aufsicht und Seitenansicht.
- Foto 3 — a) Vermehrungsmitosen von Oogonien; b) sehr stark vergroesserter Ausschnitt. Aequatorialplatten in Aufsicht und Seitenansicht.
- Foto 4 — Ovariolenstiel mit Druesengewebe (Mitte links).
- Foto 5 — Uebergang von der Prohasenzone (links vom Pfeil) zur Zone der unregelmassigen Anordnung einer Ovariole (Totalpraeparat).
- Foto 6 — Oozytenukklus mit aufgelosten Tetraden, deren Bezirke noch erkennbar.
- Foto 7 — Oozyte im Querschnitt. Reihenartige Anordnung.
- Foto 8 — Oozyte in fortgeschrittener Dotterbildung. Kern in fast peripherer Stellung.



Foto 1

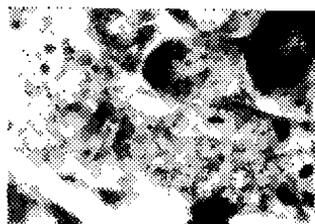


Foto 2 a

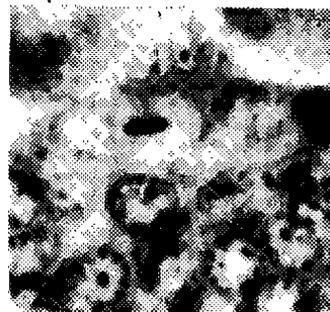


Foto 2 b



Foto 3 a

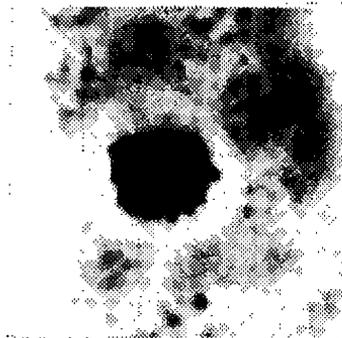


Foto 3 b



Foto 5

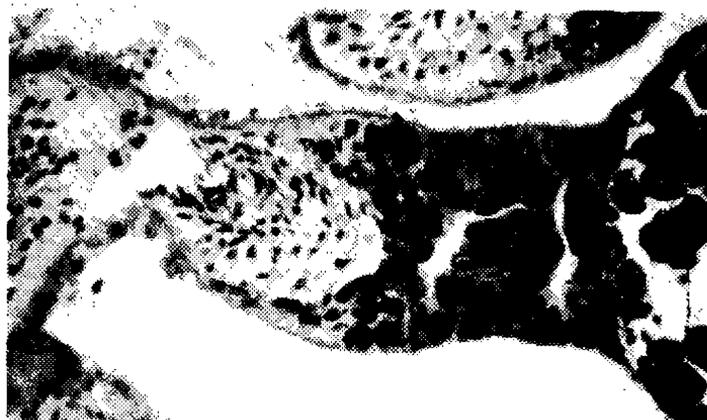


Foto 4

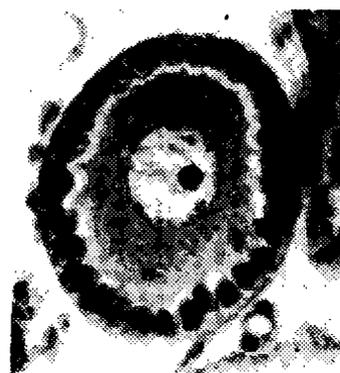


Foto 7

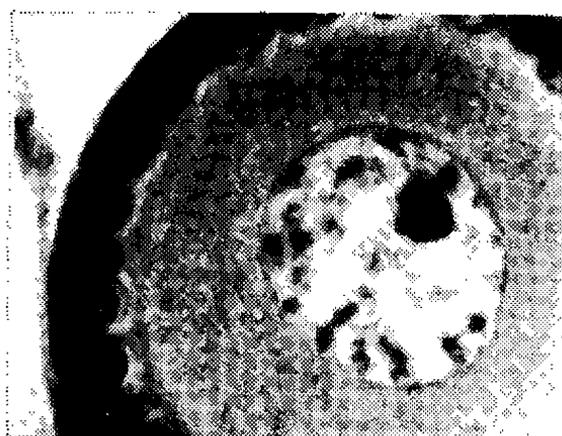


Foto 6

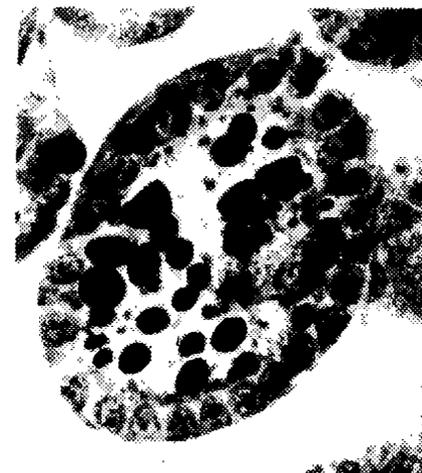


Foto 8

TAFEL II

- Foto 9 — Uebergang von der ungeordneten (Links vom Pfeil) zur reihenartigen Anordnung.
- Foto 10 — Oozyte in fortgeschrittener Dotterbildung mit peripher gelegenen Kern und fein verteiltem Chromatin.
- Foto 11 — Kern mit Nukleolarsubstanz und deutlich erhaltener Kernmembran (oben) zwischen Dotterschollen (uebervergroessert).
- Foto 12 — Querschnitt durch Ovariole im Stadium der wandstaendigen groben Koerner.
- Foto 13 — Querschnitt durch Ovariole im Stadium der Synapsis, Knaeuel in Seitenansicht.
- Foto 14 — Laengsschnitt durch Ovariole im Stadium der Synapsis, Knaeuel in Polansicht.
- Foto 15 — Wie Foto 14, nur staerker vergroessert.
- Foto 16 — Nukleolus bei Satellitenbildung.
- Foto 17 — Nukleolus in Teilung.
- Foto 18 — Nukleolus mit zahlreichen Satellitenkoerpern.



Foto 9



Foto 10

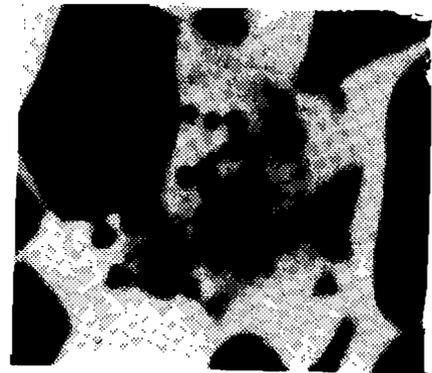


Foto 11

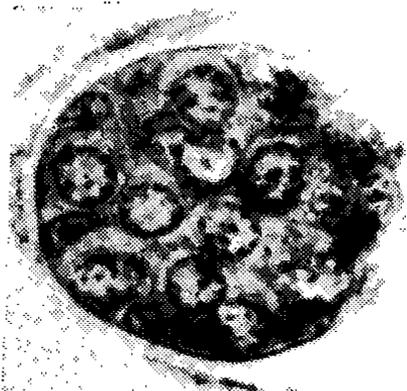


Foto 12

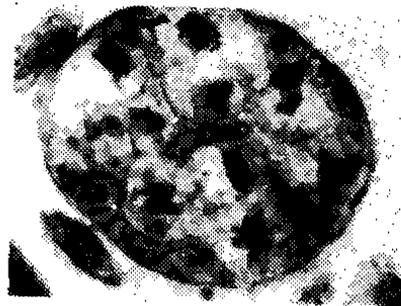


Foto 13



Foto 14

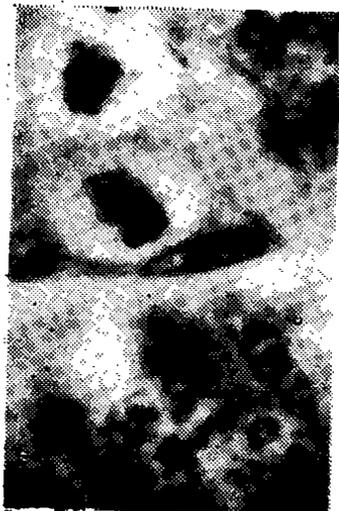


Foto 15

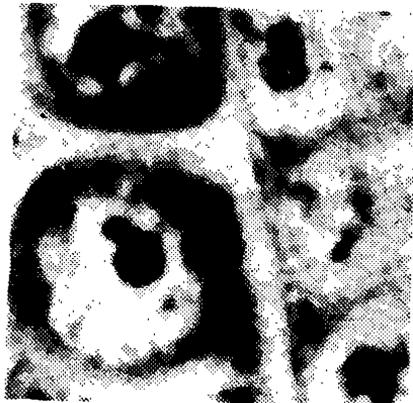


Foto 16

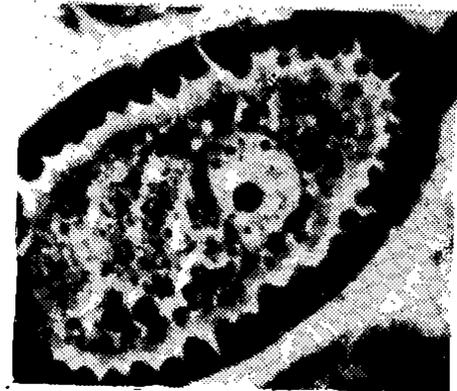


Foto 18



Foto 17

Barth: Oozytenkern von Nasutitermes

TABELLE 1

Stadium	Oozy- tenzelle Durch- messer in μ	Nukleus Durch- messer in μ	Nukleo- lus Durch- messer in μ	Bemerkungen
1	—	4,7	0,8	Germarium, syncytial
2	—	5,6	0,7	Halsteil
3	—	6,5	—	Mitose in prosynaptischer Zone
4	—	7,1	1,4	Prosynapsis
5	—	8,0	—	Mitose in prosynaptischer Zone
6	—	9,0	2,4	Synapsis
7	14,9	10,2	2,7	Synapsis
8	16,1	10,5	2,4	Beginn des postsynaptischen Wachstums
9	17,3	11,8	3,0	Ende der Postsynapsis
10	23,4	13,2	3,0	Beginn der unregelmässigen Anordnung und des starken Ooplasmawachstums
11	25,9	13,8	3,5	
12	29,8	15,0	3,8	
13	33,9	15,5	3,9	
14	35,9	17,0	4,45	
15	36,9	18,1	4,45	
16	37,8	18,6	4,2	
17	40,0	19,4	4,4	
18	46,0	20,4	5,15	Ende der unregelmässigen Anordnung
19	46,2	21,5	4,6	1. Oozyte in reihenartiger Anordnung
20	46,9	22,5	5,1	
21	48,4	23,1	4,94	
22	51,7	24,1	5,6	
23	48,6	24,8	5,3	
24	51,4	25,5	5,74	
25	58,4	26,0	5,6	
26	57,3	26,4	5,7	
27	60,9	27,0	6,4	Beginn der Bildung sichtbarer Dotterkugeln von 2 - 3 μ Durchmesser
28	62,7	27,8	6,4	
29	68,1	28,5	6,7	
30	69,9	29,0	6,57	
31	70,6	29,7	6,7	
32	73,7	29,9	8,0	
33	70,6	30,6	6,1	
34	74,5	30,9	7,1	Stadium der vollen Dotterbildung
35	75,5	31,6	7,7	
36	77,9	32,3	6,35	
37	79,9	33,2	6,8	Letzte Oozyte mit rundem Kern, der in der naechst aelteren Oozyte durch Dotterschollen verformt wird

TABELLE 2

DURCHMESSER UND INHALT VON KERN UND NUKLEOLEN IN
VERSCHIEDENEN OOZYTEN

Kern- durch- messer in μ	Kernin- halt in μ^3	Mutternu- kleolus (M) Satelliten (Sn)	deren Durchmes- ser in μ	deren Inhalt in μ^3	Anteil der Nukleolar- substanz am Kern- volumen in %
10,816	668,62	M	3,296	18,71	2,64
25,984	9 166,30	M	7,592	228,65	
		S-1	3,428	24,79	3,45
		S-2	2,560	8,77	
		S-3	3,808	28,79	
		S-4	3,680	26,04	
28,530	12 133,29	M	7,040	182,20	2,07
		S-1	3,520	22,79	
		S-2	1,952	3,89	
		S-3	3,488	22,17	
		S-4	2,144	5,15	
		S-5	1,632	2,27	
		S-6	2,944	13,33	
28,224	11 835,38	M	7,424	214,83	
		S-1	1,344	1,27	
		S-2	1,600	2,15	
		S-3	3,712	26,85	
		S-4	1,440	1,57	
		S-5	0,960	0,47	
		S-6	1,472	1,64	
		S-7	1,824	3,18	
		S-8	3,648	25,49	
		S-9	1,312	1,19	
		S-10	1,504	1,79	
		S-11	1,632	2,28	
		S-12	0,736	0,21	2,43
		S-13	0,736	0,21	
		S-14	1,408	1,47	
		S-15	0,736	0,21	
		S-16	1,600	2,15	
		S-17	1,216	0,94	
		S-18	1,600	2,15	
		S-19	1,248	1,02	
		S-20	0,960	0,47	
		S-21	1,600	2,15	
		S-22	1,184	0,87	
		S-23	1,536	1,86	