

*Nachdruck verboten.*

*Übersetzungsrecht vorbehalten.*

(Aus dem Königl. Institut für Infektionskrankheiten zu Berlin.)

## Studien über Kulturamöben aus Manila.

Von

**Eugene R. Whitmore.**

(Hierzu Tafel 3 u. 4.)

Bei den bereits vorliegenden genauen und eingehenden Beschreibungen von Kulturamöben durch VAHLKAMPF (1905), NÄGLER (1909) und v. WASIELEWSKI und HIRSCHFELD (1910) brauche ich nicht auf eine allgemeine Besprechung dieser Amöben einzugehen. Ich möchte an dieser Stelle nur die verschiedenen Amöben schildern, die ich kulturell aus verschiedenen Quellen in Manila gewinnen konnte.

Wie ich in dem vorstehenden Artikel bemerkte, bestand mein Material aus Kulturen von Amöben aus Leitungswasser, Sumpfwasser, aus Stühlen von Dysenteriepatienten und dem Eiter eines Leberabszesses. Die Kulturen wurden stets auf MUSGRAVE und CLEGG's (1904) alkalischem Agar bei einer Temperatur von 26° C gezogen. Ich verwandte verschiedene Bakterien — gewöhnlich *Bac. typhosus* und *Bac. dysenteriae* (FLEXNER) — als Nahrungsorganismen. Um sicher zu sein, daß sich nur eine Species von Amöben in einer Kultur fand, wurde jede Kultur mit einer einzelnen Cyste begonnen, bevor sie zum Studium verwandt wurde.

Zur Fixierung benutzte ich gewöhnlich Sublimatalkohol in der üblichen Weise, daneben die von v. WASIELEWSKI und HIRSCHFELD angegebene Modifikation. Pikrinsäure und Osmiumfixation wurden gleichfalls verwandt. Die Präparate wurden gewöhnlich mit HEIDENHAIN's oder BREINL-ROSENBUSCH's Eisenhämatoxylin gefärbt, während

Delafield, Giemsa, Unna und verschiedene andere Färbmethoden zu speziellen Zwecken in Anwendung kamen.

Bei genauerem Studium konnte ich in meinen Kulturen drei Species unterscheiden, von denen zwei Amöben und eine eine Mastigamöbe betrafen.

### *Amoeba limax*, Subspecies M. I.

Diese Species entstammte einer Kultur aus Leitungswasser (sie wurde mir von M. CLEGG gegeben), einer Kultur aus dem Eiter eines Leberabszesses und aus 13 Kulturen aus Stühlen von Dysenteriefällen.

Im Ruhezustande findet man keine Trennung in Ecto- und Entoplasma. Das ganze Protoplasma erscheint angefüllt mit stark lichtbrechenden Körnchen. Der Kern ist deutlich sichtbar. Es findet sich eine große kontraktile Vacuole, die vielleicht durch Zusammenfließen von zwei oder drei Vacuolen entstanden ist. Diese Amöbe ist nicht lebhaft beweglich. Die Pseudopodien sind sehr breit, fast fächerförmig, so daß die ganze Hälfte des Randes der Amöbe von einem breiten Pseudopodium eingenommen wird, das aus hellem hyalinen Ectoplasma besteht. Der vordere Rand dieses breiten Pseudopodiums ist oft leicht gezackt. Durchschnittlich beträgt der Durchmesser dieser Amöbe etwa 10—18  $\mu$ , doch schwankt die Größe erheblich in demselben Präparate.

In gefärbten Präparaten zeigt das Protoplasma eine unregelmäßig alveoläre Struktur mit Nahrungsvacuolen, die Reste enthalten. Oft findet sich an einem Ende eine große Vacuole, die offenbar das kontraktile Element darstellt.

Der Kern ist ein Caryosomkern, dessen ganzes Chromatin meist in einem großen zentralen Caryosom angehäuft ist. Durch starke Differenzierung kann man oft bemerken, daß das Zentrum des Caryosoms nicht so dicht ist, wie die Peripherie. In diesem Falle sieht man gewöhnlich ein zentrales Körnchen (Centriol) (Fig. 1). Das Caryosom ist von einer breiten hellen Zone, der Kernsaftzone, umgeben, die kein Netzwerk enthält. Um diese Kernsaftzone findet sich eine deutliche Kernmembran, der manchmal Chromatinkörnchen eingelagert sind (Fig. 1).

Das erste Stadium der Kernteilung zeigt sich darin, daß das Caryosom locker wird, und man oft ein schmales Band quer über das Caryosom verlaufen sieht (Fig. 2), woraus zu erkennen ist, daß das Centriol sich schon geteilt hat und die Tochtercentriolen sich in

der dichten Masse des Chromatins an der Oberfläche des Caryosoms verloren haben. Dann teilt sich das Caryosom und beide Hälften trennen sich, um breite Polkappen zu bilden, während zwischen beiden Hälften ein Streifen von Achromatin erscheint. Quer über der Mitte des letzteren tritt nun ein schmales körniges Band (Äquatorialplatte) auf (Fig. 3). Es findet sich keine Andeutung einer Centrodosome. Die Äquatorialplatte teilt sich (Fig. 4), und beide Tochterplatten wandern nach den Polkappen. Darauf teilt sich die achromatische Spindel, die Kernmembran wird zwischen den beiden Tochterkernen abgeschnürt. Gewöhnlich teilt sich das Plasma sehr bald nach Vollendung der Kernteilung. Man findet also nur selten Tiere mit zwei Kernen.

Nach ungefähr 5 Tagen beginnen Cysten in den Kulturen zu erscheinen. Anfänglich sind die Cysten rund, doch in ungefähr 4 Tagen beginnen sie, eine unregelmäßige Stern- oder winklige Form anzunehmen, was unter meinen Amöben allein für diese Species charakteristisch ist. Ein sehr kleiner Teil der Cysten bleibt rund, so daß man bei einer alten Kultur den Eindruck gewinnt, daß es zwei Arten von Amöben gebe. Eine aus runden resp. eckigen Cysten angelegte Kultur zeigt jedoch ebenfalls die Mischung von runden und eckigen Cysten.

Die eckigen Cysten sind ungefähr 12—14  $\mu$  im Durchmesser. Sie besitzen eine doppelte Hülle (Fig. 5), deren äußere unregelmäßig, häufig eingerissen ist, oder sogar bei der Fixierung verloren geht. Anfangs liegt der einzelne Kern im Zentrum der Cyste. Dann erfährt er eine heteropole Teilung (Fig. 6 und 7), wobei der kleinere Kern im Zentrum der Cyste bleibt, während der größere nach der Oberfläche wandert, woselbst er resorbiert oder ausgestoßen zu werden scheint. Im letzten Stadium enthält die Cyste einen einzigen im oder nahe dem Zentrum gelegenen Kern. Dieser Zustand bleibt monatelang unverändert.

Am Kern der runden Cysten habe ich niemals irgendwelche Veränderungen beobachtet. Ich bin daher geneigt anzunehmen, daß es sich hier um Cysten handelt, die ihre Entwicklung nicht vollendet haben.

In der Kultur aus dem Eiter vom Leberabszeß enthielten viele Amöben einen parasitären Micrococcus (vgl. NÄGLER, 1910). Das Plasma dieser Amöben ist von Micrococccen erfüllt, und zwar liegen dieselben nicht in den Nahrungsvacuolen, sondern sind durch das ganze Plasma zerstreut. Der Kern bleibt gewöhnlich frei (Fig. 8). Bei einigen Amöben ist er jedoch vollständig verschwunden, und ein

solches Exemplar ist fast nur noch ein mit Coccen angefüllter Sack, während an anderen Stellen die Amöben geborsten sind und die Coccen zerstreut umherliegen. Man kann sie aber noch gut erkennen, da sie sich um vieles tiefer färben als die anderen Bakterien im Gesichtsfelde.

In einer Kultur aus Fäces enthielten die Amöben einen parasitären Protisten, wahrscheinlich eine Cythridiacee (s. CHATTON u. BRODSKY, 1909) (Fig. 9).

### *Amoeba limax*, Subspecies M. II.

Diese Species wurde aus der Kultur vom Stuhle eines Dysenteriepatienten und aus Kulturen von Sumpfwasser gewonnen.

Die Amöbe entspricht der für Species M. I gegebenen allgemeinen Beschreibung, doch sind ihre Bewegungen verschieden. Die Pseudopodien sind klein und knospenartig und können in großer Zahl an allen Seiten herausgestreckt werden, so daß das Tier etwa wie eine Maulbeere aussieht. Es gibt nur eine einzige kontraktile Vacuole. Diese Amöbe mißt 12—18  $\mu$  im Durchmesser.

An gefärbten Präparaten kann man eine sehr deutliche Kernmembran erkennen (Fig. 10). Ein Caryosom ist vorhanden, und sehr leicht bemerkt man auch ein zentrales Körnchen (Centriol) (Fig. 11).

Bei der Kernteilung teilt sich das Centriol zuerst. Gewöhnlich sieht man einen Streifen, eine Centrodosome, quer über das Caryosoma verlaufen, während die beiden Tochtercentriolen an der Oberfläche des Caryosoma in der Masse des Chromatins halb versteckt liegen (Fig. 12). Die Spindel ist sehr häufig lang und zugespitzt, die Polkappen sind sehr klein, und eine Centrodosome ist deutlich sichtbar, auch nach völliger Ausbildung der Äquatorialplatte (Fig. 13 u. 14).

Bei einem zweiten Typus der Kernteilung sind die Polkappen breit und dicht, eine Centrodosome ist nicht sichtbar (Fig. 15—18) oder höchstens eine schwache Spur davon (Fig. 16).

Das letzte Stadium der Kernteilung kam mir nicht zu Gesicht, obgleich Amöben mit zwei Kernen nicht selten vorkommen (Fig. 19). Tiere mit drei Kernen sind allerdings sehr selten. Das letztere kommt, glaube ich, nur dann zustande, wenn einer der beiden Tochterkerne sich noch vor Teilung des Plasmas teilt. Fig. 22 zeigt eine Amöbe mit zwei in Teilung begriffenen Kernen. Niemals sah ich Figuren, die erkennen ließen, daß ein Kern sich gleichzeitig

in mehr als zwei Tochterkerne teilte, wie das v. WASIELEWSKY und HIRSCHFELD bei ihren Formen fanden.

Diese Amöbe encystiert sich sehr früh; nach ungefähr 4 Tagen finden sich auf der Platte keine vegetativen Formen mehr. Die Cysten sind rund und bleiben so. Ihr Durchmesser beträgt 9—10  $\mu$ . Sie besitzen eine doppelte Hülle (Fig. 20), deren äußere dick und unregelmäßig ist und gewöhnlich bei der Fixierung verschwindet. Die Cyste besitzt nur einen einzigen zentralen Kern, in dem ich als einzige Veränderung ein scheinbares Wandern von Chromatin aus dem Caryosom in die Kernsaftzone beobachten konnte. Bei älteren Cysten sieht man oft eine Zahl von Körnchen im Körper der Amöbe mitten in der Cystenwand (Fig. 21). Diese Körnchen färben sich nicht wie metachromatische Körper, noch wie Glykogen, sondern wie Chromatin, wenn auch etwas schwächer. Wahrscheinlich entsprechen sie den Chromidien der *Ent. tetragena* und *Ent. coli*.

Bei dieser Amöbe sieht man oft Massen von Plasma sich ab-schnüren (Fig. 23). Diese in jedem Gesichtsfeld sichtbaren Massen haben nichts mit einer Sporenbildung oder ähnlichen Prozessen zu tun, sondern gehen zugrunde.

### *Trimastigamoeba philippinensis* n. g. n. sp.

Dieser Organismus wurde aus einer Kultur von Leitungswasser in Manila gewonnen. Er wächst gut auf MUSGRAVE und CLEGG's alkalischem Agar. Unter den gewöhnlichen Bedingungen erscheint dieses Tier als Amöbe vom *Limax*-Typus. Sie bewegt sich sehr lebhaft, indem sie breite zungenförmige Pseudopodien ausstreckt, und zwar in rascher Aufeinanderfolge in wechselnder Richtung. Das ganze Tier erscheint oft zu einem breiten zungenförmigen Bande ausgedehnt.

Der Durchmesser beträgt 16—18  $\mu$  in der Ruhe. Eine Trennung von Entoplasma und Ectoplasma ist nicht erkennbar, das ganze Plasma scheint von lichtbrechenden Körnchen erfüllt zu sein. Sobald das Tier ein Pseudopodium ausstreckt, hebt sich jedoch das Ectoplasma deutlich ab und bildet fast das ganze Pseudopodium.

Die kontraktile Vacuole liegt im hinteren Teile des Körpers. Gewöhnlich ist sie allein vorhanden, doch können daneben zwei oder drei kleinere Vacuolen auftreten, die dann allmählich zu einer einzigen großen Vacuole zusammenfließen. Außerdem finden sich im Plasma zahlreiche Nahrungsvacuolen, von denen viele Bakterien enthalten.

Der Kern ist im lebenden Tiere deutlich sichtbar. Bei Färbung mit HEIDENHAIN'S Hämatoxylin erscheint er als ein typischer Caryosomkern, d. h. das Chromatin ist im Zentrum zu einem großen Caryosom angehäuft, das sich intensiv und gleichmäßig färbt. Um dieses Caryosom liegt eine helle Zone — die Kernsaftzone —, welche eine wechselnde Menge von Chromatin enthält. Eine deutliche Kernmembran ist nicht sichtbar.

Die erste Andeutung einer Teilung bemerkt man im Caryosom, wo das Chromatin sich auflockert und sich an der Peripherie ansammelt. Dadurch wird die zentrale Partie des Caryosoms heller. Trotzdem habe ich niemals ein Centriol gesehen, das sich wahrscheinlich schon geteilt hat und in der dichten Masse des Chromatin am Caryosomrande entlang verborgen liegt. Ich glaube nicht, daß die Unsichtbarkeit des Centriols durch ungenügende Differenzierung bedingt ist, da ich das Caryosom durch alle Stadien bis zu völliger Entfärbung verfolgt habe, ohne jemals ein Centriol bemerken zu können. Das Caryosom verlängert sich nun und das Chromatin bildet zwei dichte Massen — die Polkappen —, während das Achromatin als homogene Masse zwischen den beiden Polkappen angeordnet ist. Darauf sammeln sich einige Körnchen quer über die Masse von Achromatin in der Mitte zwischen den beiden Polkappen, um sich hier allmählich immer stärker als Äquatorialplatte anzuhäufen (Fig. 25). Die Äquatorialplatte teilt sich in zwei Tochterplatten (Fig. 26), eine bestimmte Zahl von Chromosomen konnte ich jedoch nicht feststellen. Nach endgültiger Teilung des Kerns bleibt das Chromatin der Polkappen und das der Tochterplatten einige Zeit in den Tochterkernen von der Masse des Chromatins getrennt (Fig. 27 u. 28). Später ordnen sich die Kernelemente wieder wie früher und wir erhalten das dichte Caryosom, umgeben von der Kernsaftzone. Darauf teilt sich das Plasma (Fig. 29).

Während die oben beschriebene Promitose der gewöhnliche Teilungsmodus des Kernes ist, kann man nicht selten Abweichungen finden. So kann z. B. das Caryosom wie bei einer einfachen Teilung lediglich in zwei Teile abgeschnürt erscheinen, worauf die Teilung wie oben fortschreiten kann (Fig. 25); oder die die Äquatorialplatte bildende Masse verlängert sich nur, um schließlich abgeschnürt zu werden, wenn sie zu einer langen, beide Hälften verbindenden Faser ausgezogen worden ist (Fig. 27). Diese Art der Teilung ähnelt sehr einem von VAHLKAMPF für *Amoeba limax* beschriebenen Teilungsmodus.

Oft sieht man Amöben mit zwei Kernen (Fig. 29) und gelegentlich solche mit drei Kernen (Fig. 30), auch fand ich zweikernige

Amöben, deren einer Kern in Teilung begriffen war. Die meisten dreikernigen Amöben entstehen meiner Ansicht nach auf diese Weise, denn niemals bemerkte ich, daß ein einziger Kern sich in mehr als zwei Tochterkerne teilte, wie das WASIELEWSKI und HIRSCHFELD bei ihren Formen gefunden haben.

Auf festem Nährboden erscheinen nach ungefähr 3—5 Tagen stark lichtbrechende Cysten unter den vegetativen Formen. Diese Cysten sind, abgesehen von den unten angegebenen Abweichungen, rund oder oval und messen etwa 8—12 : 13—14  $\mu$ . Die Cystenwand setzt sich aus zwei Schichten zusammen, deren äußere bei der Fixierung gewöhnlich verloren geht. Im Innern, die Cyste nicht ganz ausfüllend, befindet sich das Tier mit seinem einzigen zentralen Kern. Es handelt sich hier nur um eine Dauercyste (Fig. 31). Einige junge Cysten enthalten Körnchen, die ihrem Aussehen und ihrer Färbbarkeit nach den Körnchen ähneln, von denen bei den Cysten der *Amoeba limax*, Subspecies M. II die Rede war. Beiden kommt, glaube ich, dieselbe Bedeutung zu. In etwa 9 Tage alten Kulturen sieht man viele ovale Cysten, welche aussehen, als sei die Hülle tief gefaltet, wodurch der Eindruck entsteht, als befände sich eine Vacuole im Innern der Cyste (Fig. 32). In älteren Kulturen finden sich diese ovalen Cysten nicht, sondern nur die oben beschriebenen runden Cysten, und diese bleiben monatelang unverändert.

Bei Übertragung auf geeignete Nährböden reißt die Cystenwand ein und eine einzige Amöbe entschlüpft. In gefärbten Präparaten sieht man oft Tiere den Cysten entschlüpfen, wobei es den Anschein hat, als ob eine Teilung stattfinde. Zwei Massen von Protoplasma liegen an entgegengesetzten Seiten der Cystenmembran und der Kern scheint in Teilung begriffen zu sein, wobei eine lange Centrosomosis die beiden Tochterkerne verbindet (Fig. 33 u. 34).

Als eine Copulation kann man dies kaum ansehen, da in diesem Falle keine Centrosomosis vorhanden wäre. Ich hielt die später zu besprechende Geißel für einen Rest dieser Centrosomose, doch scheint dies, wie wir unten sehen werden, unmöglich zu sein. Als ich diese Einzelheiten am lebenden Organismus zu studieren versuchte, sah ich Organismen aus einer Cyste nach zwei Richtungen herausschlüpfen, die dasselbe Bild wie in Fig. 34 gaben. Plötzlich aber zog sich das Plasma an einer Seite zurück und das Tier entkam schnell von der anderen Seite als eine einzige Amöbe. Irgend-eine Veränderung am Kern konnte ich nicht feststellen. Ich weiß daher nicht, was die Figg. 33 u. 34 bedeuten, und es bleibt weiteren Untersuchungen vorbehalten, dies aufzuklären.

Ich untersuchte alle meine Kulturen auf die Schwimmformen von WASIELEWSKI und HIRSCHFELD (1909 u. 1910). Aber nur in der Kultur dieses Tieres entwickelten sich solche Formen. Ich verwandte Kulturen, die 2—3 Tage alt waren und eine große Menge von Cysten enthielten. Ich untersuchte auch ältere Kulturen von 6, 9, 19 und 43 Tagen, in jedem Falle war das Resultat das gleiche, — nach etwa 4 Stunden waren keine Cysten mehr sichtbar, sondern nur Schwimmformen und amöboide Gebilde. Bei Anwendung von destilliertem Wasser, Leitungswasser, Leitungswasser mit einer Spur Kochsalz, Leitungswasser mit einer geringen Menge gewöhnlicher Bouillon und Eiweißwasser, konnte ich keinen zeitlichen Unterschied in der Entwicklung der Schwimmformen feststellen, ebenso keinen Unterschied in der Zahl der Schwimmformen nach einer bestimmten Zeit. Ich fand, daß man, um Schwimmformen zu erhalten, nur einige Kubikzentimeter Leitungswasser auf die Oberfläche der Agarkulturen zu bringen brauchte. Nach 1 Stunde ist noch keine deutliche Veränderung sichtbar, nach 2 Stunden aber treten Schwimmformen auf, bis sie nach Ablauf von 4 Stunden sehr zahlreich sind, Cysten ganz fehlen und nur vegetative Tiere und Geißelformen erscheinen.

Nach Ablauf von 20 Stunden sind dagegen alle Individuen zur amöboiden Form zurückgekehrt, wie sie in Fig. 24 dargestellt sind. Nur im Eiweißwasser bleiben die Flagellaten-Stadien noch länger erhalten, wie unten erwähnt.

Zwischen Objektträger und Deckgläschen schwimmen sie einige Zeit lebhaft umher, bis sie in ihrer Lebhaftigkeit nachlassen und sich abrunden. Man sieht dann die kräftig schlagenden Geißeln am vorderen Ende, den Kern in der vorderen Hälfte des Körpers und die kontraktile Vacuole am hinteren Ende. Plötzlich scheint sich das Tier an das Glas anzuheften, ein breites Pseudopodium wird an der einen Seite herausgestreckt, darauf an der anderen Seite, und schließlich bewegt sich das Tier wieder lebhaft wie eine Amöbe. Man kann die Geißeln einige Zeitlang sehen, bis sie plötzlich verschwindet. Das Tier sieht dann wie eine echte Amöbe aus. Obgleich ich das Verschwinden der Geißel beobachtet habe, kann ich über das Schicksal derselben nichts aussagen.

Am lebenden Organismus ist der Körper lang, oval, hinten gewöhnlich breiter als vorn. Eine kontraktile Vacuole ist am hinteren Ende deutlich sichtbar. Der Kern ist gewöhnlich in der vorderen Hälfte des Körpers sichtbar. Vom vorderen Ende entspringen drei lange und schlanke Geißeln, von denen zwei nach vorn gerichtet

sind, während eine als Schleppeißel nach hinten zeigt. Weitere Einzelheiten der Struktur lassen sich am lebenden Organismus nicht feststellen.

Es war sehr leicht, Dauerpräparate dieser Geißelformen herzustellen, indem man eine Öse der Aufschwemmung mit einer Öse Eiweißwasser auf einem Deckgläschen mischte und die Ausstriche auf gewöhnliche Weise mit Sublimatalkohol oder FLEMMING'S Lösung fixierte. Der einfachste Weg ist jedoch der, die Aufschwemmung in Eiweißwasser zu machen und davon direkt nach 5—7 Stunden, d. h. wenn viele Geißelformen vorhanden sind, Präparate anzufertigen. Die Präparate wurden mit Eisenhämatoxylin nach HEIDENHAIN oder nach der Modifikation von BREINL-ROSENBUSCH gefärbt.

Nach  $\frac{3}{4}$ — $1\frac{1}{4}$  Stunden enthalten die Aufschwemmungen keine Geißelformen und Präparate hiervon zeigen nur noch Cysten und vegetative amöboide Organismen.

Nach 2 Stunden finden sich einige Geißelformen in den Aufschwemmungen. Zu diesem Zeitpunkte sind nun die Präparate sehr instruktiv. Viele Tiere sind aus den Cysten ausgeschlüpft oder sind gerade im Begriff, dies zu tun, und hier kann man besonders deutlich die oben beschriebene Art des Ausschlüpfens studieren. Die Zahl der vegetativen Formen hat bedeutend zugenommen und bei vielen dieser Tiere befindet sich der Kern in Teilung. Es scheint sich hier um den gewöhnlichen für dieses Tier oben beschriebenen Teilungsmodus zu handeln. Oft bemerkt man Tiere mit zwei Kernen von annähernd der gleichen Größe, und der ganze Prozeß scheint ausschließlich mit der Vermehrung der Tiere zusammenzuhängen.

Außerdem findet sich noch eine große Anzahl von Tieren, bei denen der Kern eine eigenartige Form der Teilung eingeht, wenn man dies noch eine Teilung nennen kann. Hier scheint nun die Erklärung für den Ursprung der Geißel gegeben zu sein. Zuerst verlängert sich das Caryosom, wobei der eine Pol viel spitzer wird als der andere (Fig. 35). Dann beginnt der kleinere Pol des Caryosoms sich abzuschnüren (Fig. 36) und nach vollendeter Abschnürung liegt ein kleines Körnchen in der Kernsaftzone neben dem Caryosom (Fig. 37). Bei vielen Tieren sieht man ein ähnliches Körnchen an verschiedenen Stellen im Plasma liegen, von der unmittelbaren Nähe des Kerns bis dicht an die Oberfläche des Plasmas (Fig. 38 u. 39). Niemals bemerkte ich eine Verbindung zwischen dem Kern und dem erwähnten Körnchen. Ich vermag daher nicht ganz sicher zu sagen, ob es das Körnchen ist, das ich sich vom Caryosom abschnüren sah, doch glaube ich dies annehmen zu dürfen. Und ferner vermute ich,

daß es sich nach der Oberfläche zu bewegt, um dort durch wiederholte Teilungen die basalen Körnchen zu bilden, und daß diese wiederum durch Teilung zur Geißel führen. Wie ich später zeigen werde, besteht zuweilen eine fibrilläre Verbindung (Rhizoplast) zwischen dem Kern und den basalen Körnchen. Dies ist jedoch ein unwesentlicher Teil der Struktur und meistens nicht vorhanden.

Durch die Beobachtung der lebenden Organismen in der Aufschwemmung hoffte ich, über die Bildungsweise der Geißel Aufschluß bekommen zu können. Aber selbst bei starker Ablendung konnte ich Geißelformen nicht sich bilden sehen. Das Tier schlüpfte aus der Cyste, bewegte sich eine Zeitlang wie eine gewöhnliche Amöbe, um sich dann wieder ohne Geißelbildung zu encystieren. In nach WASIELEWSKI und HIRSCHFELD fixierten Präparaten ist eine derartige Abschnürung einer kleinen Masse vom Caryosom sehr gewöhnlich. Wahrscheinlich stellt es den Anfang eines Geißelstadiums dar wegen der Ansammlung einer Wasserschicht unter dem auf der Oberfläche des Agars liegenden Deckgläschen. Es ist durchaus verschieden von dem von diesen Autoren erwähnten Randkörper.

Nach 5 Stunden enthält die Aufschwemmung viele Geißelformen, zahlreiche amöboide Individuen und fast gar keine Cysten. Die zu dieser Zeit angefertigten Präparate liefern ein reiches Material zum Studium der vollentwickelten Geißelform (Fig. 40—45).

Die Geißelformen sind lang und oval, hinten gewöhnlich breiter als vorn. Sie sind etwa 16—22  $\mu$  lang und 6 $\frac{1}{2}$ —8  $\mu$  breit an der breitesten Stelle. Das Plasma ist undeutlich alveolär und enthält eine große Menge von Körnchen, jedoch fast gar keine Nahrungsteilchen. Nicht selten liegt eine große Vacuole im hinteren Teil (Fig. 42), die wahrscheinlich die kontraktile Vacuole darstellt.

In der vorderen Hälfte des Körpers liegt der Kern mit seinem dichten Caryosom und der breiten Kernsaftzone und einer erheblichen Menge vom Außenchromatin. Vom vorderen Ende entspringen drei Geißeln von annähernd gleicher Länge. Meist sind zwei Geißeln nach vorn gerichtet, während eine nach hinten schaut (Fig. 44) und wahrscheinlich die am lebenden Tiere sichtbare Schleppgeißel darstellt. Daß diese Geißeln von den am vorderen Ende des Plasmas dicht an der Oberfläche gelegenen Basalkörnchen entspringen, ist deutlich sichtbar. Zuweilen sind drei Basalkörnchen erkennbar, eines für jede Geißel (Fig. 44). Da sie jedoch in Gestalt eines Dreiecks, das wir von der Seite sehen, angeordnet sind, sehen wir gewöhnlich nur zwei. Eine Verbindung zwischen diesen Basalkörnchen und dem Kern ist gewöhnlich nicht erkennbar. Nicht selten aber

erblickt man einen zwischen dem Caryosom und den Basalkörnchen verlaufenden Rhizoplasten, der entweder zerrissen ist oder sich im Zustande der Degeneration befindet. Man sieht also nur einen Rest desselben, der vom Caryosom nach vorn verläuft und in ein Körnchen im Plasma endet (Fig. 41). Der Rest kann auch nach hinten verlaufen und im Plasma enden (Fig. 42), oder aber man sieht Bilder in denen der Rhizoplast fast intakt vom Caryosom zu den Basalkörnchen verläuft (Fig. 40 u. 43). Dieser Rhizoplast lehrt, daß der Bewegungsapparat aus dem Kerne stammt, und er bestätigt in hohem Maße meine oben geäußerte Annahme, wonach das vom Caryosom abgeschnürte Körnchen sich vom Kern fortbewegt und schließlich den Bewegungsapparat bildet. Die Tatsache jedoch, daß der Rhizoplast gewöhnlich fehlt, und daß, wenn er vorhanden ist, er sich im Zustande der Degeneration befindet, beweist, daß es sich nicht um einen wesentlichen Teil der Struktur handelt.

Betrachten wir diejenigen Formen, wie sie aus den Cysten schlüpfen (Fig. 33 u. 34), so könnten der Rhizoplast und eine einzige Geißel auf obige Weise gebildet werden; drei Basalkörnchen mit drei Geißeln könnten jedoch, soviel wir heute wissen, nicht entstehen.

Wie oben angegeben, enthält die Aufschwemmung nach etwa 20 Stunden keine Geißelformen mehr, sondern nur amöboide Formen und Cysten. Es erhebt sich nun die Frage, ob wir es hier mit Copulationscysten oder mit irgendwelchen anderen als den gewöhnlich auf Agarplatten gebildeten Cysten zu tun haben. Doch die Untersuchung ergibt, daß nur die beiden Formen von Cysten, wie sie in Fig. 31 u. 32 dargestellt sind, in der Aufschwemmung vorkommen, und daß die amöboiden Formen dieselben einkernigen Gebilde sind, wie sie auf Agarplatten vorkommen (Fig. 1).

Die nächste Frage war, ob man die Dauer des Geißelstadiums verlängern und eine Vermehrung in diesem Zustand erzielen könnte, wenn die geeignete Nahrung in einem flüssigen Medium zugeführt würde. Dementsprechend wurden Kulturen aus einer an Geißelformen reichen Aufschwemmung und auch aus einer gewöhnlichen Kultur encystierter Individuen angesetzt. Als Medium wurde MUSGRAVE und CLEGG'S alkalischer Agar unter Zusatz von etwas Eiweißwasser verwandt, wie dies für die Kultivierung von *Prowazekia asiatica* verwandt wird. Ebenso wurde gekochtes Leitungswasser und eine kleine Menge gewöhnlicher Bouillon zugefügt, wie dies geschehen war, um Amöbenkulturen aus Wasser zu erlangen. Wie oben bemerkt, bersten die Cysten, und nach 3—5 Stunden enthalten

die Nährböden viele Geißelformen, einige amöboide Formen und fast gar keine Cysten. Die Geißelformen scheinen in Eiweißwasser am längsten auszudauern, denn nach 24 Stunden findet sich noch immer eine beträchtliche Menge derselben vor. Einmal fand ich eine einzelne Geißelform in einer 3 Tage alten Eiweißwasserkultur, doch am nächsten Tage waren nur gewöhnliche Cysten vorhanden (Fig. 31 u. 32).

Zeichen einer Vermehrung fanden sich niemals im Geißelstadium, ebensowenig Andeutungen einer Copulation, einer Bildung von Plasmodien oder Sporogonie.

Ich bin daher geneigt anzunehmen, daß die Geißelformen nur von den encystierten Organismen herkommen, obwohl sich Bestimmtes hierüber nicht sagen läßt. Augenscheinlich nimmt das Tier nach dem Ausschlüpfen aus der Cyste die Geißelform an, kehrt nach einigen Stunden zur amöboiden Form zurück, vermehrt sich durch Teilung, um sich dann wieder zu encystieren. Bei Verpflanzung auf frische Nährböden wiederholt sich derselbe Prozeß.

Der hier beschriebene amöboide Organismus wird wegen seiner Fähigkeit der Geißelbildung am besten bei den Rhistomastigina eingereiht. Da wir bei dieser Flagellatenordnung bisher nur ein- und zweigeißelige Formen antreffen, so erscheint es notwendig, für ihn eine neue Gattung aufzustellen, wofür ich den Namen *Trimastigamoeba* vorschlage.

Zum Schluß möchte ich mit WASIELEWSKI und HIRSCHFELD betonen, daß alle Amöbenkulturen auf das Geißelstadium untersucht werden sollten.

---

Alle meine Kulturamöben, gleichgültig von welcher Quelle sie stammten, sind vom freilebenden Typus und haben nichts mit den parasitären Amöben gemeinsam.

Da meine Kulturamöben mit den von MUSGRAVE und CLEGG (1904) (eine meiner Kulturen wurde mir von Herr CLEGG gegeben), von LESAGE (1905), WALKER (1908) und NOC (1909) im Typus identisch sind, muß ich zu dem Schluß kommen, daß alle diese Autoren frei lebende Amöben beschrieben haben, die mit den verschiedenen parasitären Formen, mit denen jene Autoren sie identifizierten, nichts zu tun hatten. Bei der von einigen Autoren (NOC, WALKER) beschriebenen Sporenbildung handelt es sich augenscheinlich um Parasiten (Fig. 9), oder um Abschnürung von Protoplasmamassen (Fig. 23), oder aber um den Übergang von Chromatinkörnchen aus dem Kern in das Plasma (Fig. 21).

Da CRAIG (1908), MC CARRISON (1910) und ich gezeigt haben, daß *Ent. coli* im Darmkanal des Menschen in den östlichen Tropen vorkommt, kann ich nicht mit LESAGE (1908) darin übereinstimmen, daß *Ent. coli* im Darmkanal des Menschen in den gemäßigten Klimaten parasitär ist, und daß eine andere Amöbe, die er *Ent. tropicalis* nennt, parasitär im Darmkanal des Menschen in den Tropen vorkommt. Seine züchtbare *Ent. tropicalis* ist sicherlich eine freilebende Amöbe und hat nichts zu tun mit den parasitären Amöben im menschlichen Darm.

---

### Literaturverzeichnis.

- CRAIG, C. F. (1908): Studies upon the amoebae in the intestine of man. Journ. of Inf. Diseases Vol. 5.
- DANGEARD, P. A. (1910): Études sur le development et la structure des organismes inférieurs. Le Botaniste 11 série.
- LESAGE, A. (1905): Culture de l'amibe de la dysenterie des pays chauds. Ann. de l'Inst. Pasteur T. 18 et 19.
- (1908): Note sur les Entamibes dans la dysenterie ambiennne des pays chauds. Bull. de la Soc. de Path. Exotique T. 1.
- MC CARRISON, R. (1909): Amoebae in intestines in cases of goitre in Gilgit. Quart. Journ. micr. Sc. Vol. 53.
- MUSGRAVE, W. E. and CLEGG, M. T. (1904): Amoebas, their cultivation and etiologic significance. Bureau of Govt. Labs., Manila, Bull. 18.
- NÄGLER, K. (1909): Entwicklungsgeschichtliche Studien über Amöben. Arch. f. Protistenk. Bd. 15.
- (1910): Fakultativ parasitische Micrococcen in Amöben. Arch. f. Protistenk. Bd. 19.
- NOC, F. (1909): Sur la dysenterie ambiennne en Cochinchine. Ann. d. l'Inst. Pasteur T. 23.
- VAHLKAMPF, E. (1905): Beiträge zur Biologie und Entwicklungsgeschichte von *Amoeba limax* einschließlic der Züchtung auf künstlichen Nährböden. Arch. für Protistenk. Bd. 5.
- WALKER, E. L. (1908): The parasitic amoebae of the intestinal tract of man. Journ. of Med. Research. Vol. 17.
- WASIELEWSKI, TH. v. u. HIRSCHFELD, L. (1909): Zur Technik der Amöbenuntersuchung. Hyg. Rundschau Bd. 19.
- — (1910): Untersuchungen über Kultoramöben. Abhandl. der Heidelberger Akademie der Wissenschaften. Abhandl. 1.
-

### Tafelerklärung.

Sämtliche Figuren sind mit Hilfe des ABBE'schen Zeichenapparates in Höhe des Objektisches nach mit Eisenhämatoxylin gefärbten Präparaten entworfen. Vergr. ZEISS Apochr. Obj. 2 mm, Comp. Oc. 12.

#### Tafel 3.

##### Fig. 1—9. *Amoeba limax*. Subspecies M. I.

Fig. 1. Vegetative Form mit Centriol inmitten eines dichten Caryosoms. Etwas Außenchromatin an der Kernmembran.

Fig. 2. Beginnende Teilung. Das Centriol ist geteilt. Die Centrodosome erstreckt sich über das Caryosom, während die beiden Tochtercentriolen an der Oberfläche des Caryosoms liegen.

Fig. 3. Das Caryosom hat sich unter Bildung zweier breiter Polkappen geteilt. Die Äquatorialplatte liegt in der Mitte der Masse von Achromatin zwischen den beiden Polkappen.

Fig. 4. Die Äquatorialplatte hat sich geteilt.

Fig. 5. Gewöhnliche Cyste.

Fig. 6. Heteropole Teilung des Kernes einer Cyste.

Fig. 7. Teilung des Caryosoms vollendet.

Fig. 8. Amöbe mit parasitären Coccen gefüllt.

Fig. 9. Amöbe mit parasitären Protisten (Cythridiaceen).

##### Fig. 10—23. *Amoeba limax*. Subspecies M. II.

Fig. 10. Vegetative Form mit dichtem Caryosom und deutlicher Kernmembran.

Fig. 11. Vegetative Form. Ein zentrales Körnchen (Centriol) ist im Caryosom sichtbar.

Fig. 12. Beginnende Teilung. Die Centrodosome erstreckt sich über das Caryosom, während die Tochtercentriolen an der Oberfläche des Caryosoms liegen.

Fig. 13 u. 14. Kernteilung mit Centrodosome und Äquatorialplatte.

Fig. 15. Beginn des zweiten Typus der Kernteilung. Centriol schon geteilt.

Fig. 16. Breite Polplatten mit Resten von Centrodosome.

Fig. 17. Äquatorialplatte schon gebildet.

Fig. 18. Breite Äquatorialplatte. Polplatten sehr klein.

Fig. 19. Kernteilung vollendet.

Fig. 20. Gewöhnliche Cyste mit doppelter Hülle.

Fig. 21. Cyste, bei der die Abstoßung von Chromatin vom Caryosom sichtbar ist. Körnchen im Plasma.

Fig. 22. Amöbe mit zwei Kernen, beide in Teilung begriffen.

Fig. 23. Abschnürung einer Masse von Plasma von einer Amöbe. Oberhalb befindet sich eine Plasmamasse, die von einer Amöbe abgeschnürt wurde.

## Tafel 4.

Fig. 24—45. *Trimastigamoeba philippinensis* n. g., n. sp.

Fig. 24. Vegetative Form mit vielen Bakterien in Nahrungsvacuolen.

Fig. 25. Beginnende Teilung. Polkappen noch durch eine Brücke vereinigt. Äquatorialplatte gebildet.

Fig. 26. Äquatorialplatte geteilt.

Fig. 27. Die die Äquatorialplatte bildende Masse teilt sich durch Streckung. Eine Centrodesmose verbindet noch beide Hälften.

Fig. 28. Polkappen und Elemente der Äquatorialplatte bleiben einige Zeit in den Tochterkernen getrennt.

Fig. 29 u. 30. Vegetative Formen mit zwei und drei Kernen.

Fig. 31. Gewöhnliche Cyste.

Fig. 32. Cyste mit eingestülpter Hülle.

Fig. 33 u. 34. Aus der Cyste entschlüpfende Tiere.

Fig. 35 u. 36. Ein Korn wird vom Caryosom abgeschnürt.

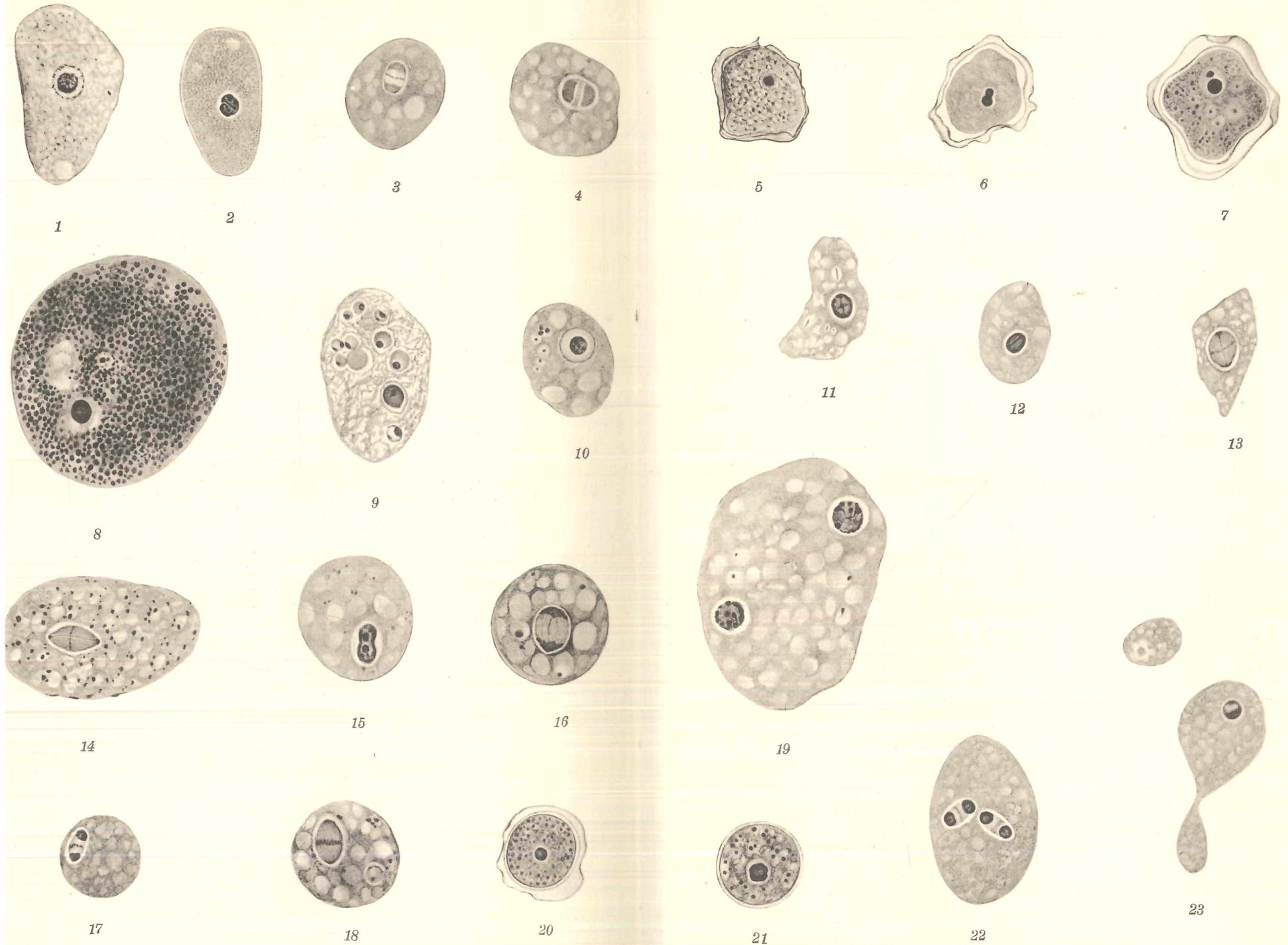
Fig. 37—39. Das Korn ist abgeschnürt und liegt an verschiedenen Stellen im Plasma.

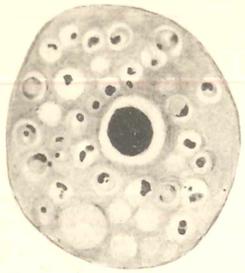
Fig. 40—43. Geißelformen mit Überresten von Rhizoplasten zwischen Caryosom und Basalkörnchen. In Fig. 43 ist die Kernsaftzone vorn offen.

Fig. 44. Die drei Geißeln entspringen von drei Basalkörnchen.

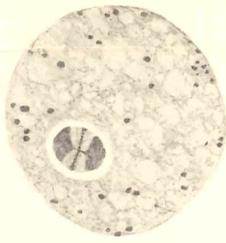
Fig. 45. Tier mit vier Geißeln. Dasselbe läßt erkennen, wie leicht die Geißelform Pseudopodien aussendet und lebhaft amöboid wird.

In Fig. 39—45 zeigt sich das Außenchromatin sehr deutlich, was, zum Teil wenigstens, auf schwache Differenzierung zurückzuführen ist.

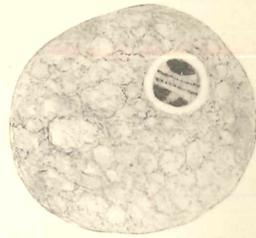




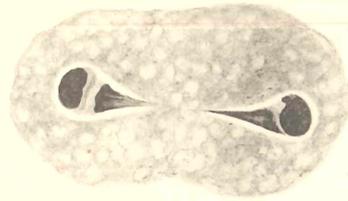
24



25



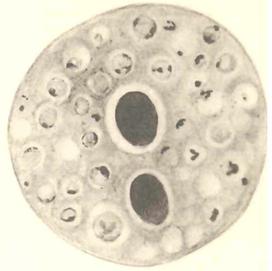
26



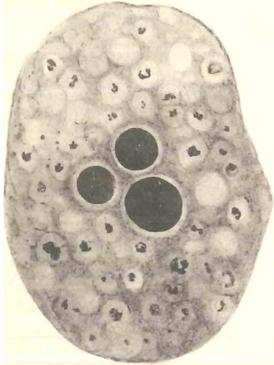
27



28



29



30



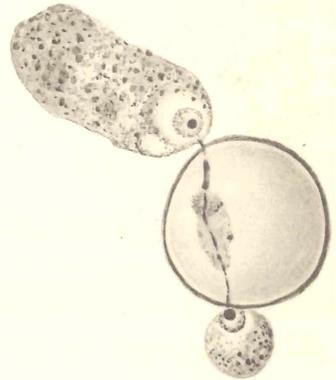
31



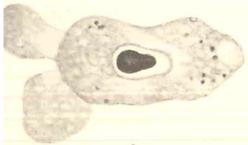
32



33



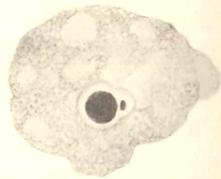
34



35



36



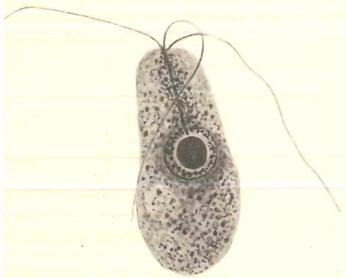
37



38



39



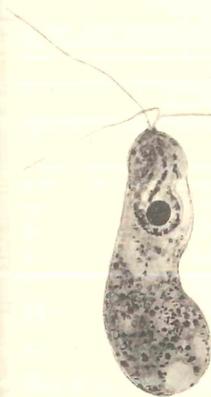
40



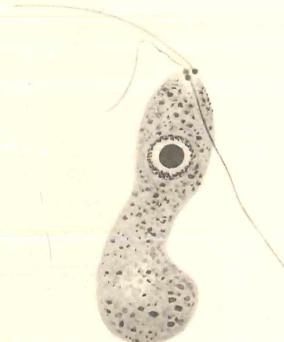
41



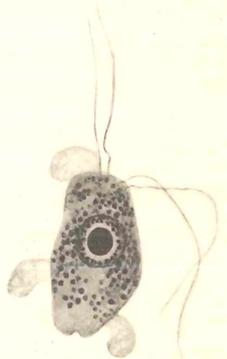
42



43



44



45

# ZOBODAT - [www.zobodat.at](http://www.zobodat.at)

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: [Archiv für Protistenkunde](#)

Jahr/Year: 1911

Band/Volume: [23\\_1911](#)

Autor(en)/Author(s): Whitmore Eugene R.

Artikel/Article: [Studien über Kultoramöben aus Manila. 81-95](#)