



## Über dieses Buch

Dies ist ein digitales Exemplar eines Buches, das seit Generationen in den Regalen der Bibliotheken aufbewahrt wurde, bevor es von Google im Rahmen eines Projekts, mit dem die Bücher dieser Welt online verfügbar gemacht werden sollen, sorgfältig gescannt wurde.

Das Buch hat das Urheberrecht überdauert und kann nun öffentlich zugänglich gemacht werden. Ein öffentlich zugängliches Buch ist ein Buch, das niemals Urheberrechten unterlag oder bei dem die Schutzfrist des Urheberrechts abgelaufen ist. Ob ein Buch öffentlich zugänglich ist, kann von Land zu Land unterschiedlich sein. Öffentlich zugängliche Bücher sind unser Tor zur Vergangenheit und stellen ein geschichtliches, kulturelles und wissenschaftliches Vermögen dar, das häufig nur schwierig zu entdecken ist.

Gebrauchsspuren, Anmerkungen und andere Randbemerkungen, die im Originalband enthalten sind, finden sich auch in dieser Datei – eine Erinnerung an die lange Reise, die das Buch vom Verleger zu einer Bibliothek und weiter zu Ihnen hinter sich gebracht hat.

## Nutzungsrichtlinien

Google ist stolz, mit Bibliotheken in partnerschaftlicher Zusammenarbeit öffentlich zugängliches Material zu digitalisieren und einer breiten Masse zugänglich zu machen. Öffentlich zugängliche Bücher gehören der Öffentlichkeit, und wir sind nur ihre Hüter. Nichtsdestotrotz ist diese Arbeit kostspielig. Um diese Ressource weiterhin zur Verfügung stellen zu können, haben wir Schritte unternommen, um den Missbrauch durch kommerzielle Parteien zu verhindern. Dazu gehören technische Einschränkungen für automatisierte Abfragen.

Wir bitten Sie um Einhaltung folgender Richtlinien:

- + *Nutzung der Dateien zu nichtkommerziellen Zwecken* Wir haben Google Buchsuche für Endanwender konzipiert und möchten, dass Sie diese Dateien nur für persönliche, nichtkommerzielle Zwecke verwenden.
- + *Keine automatisierten Abfragen* Senden Sie keine automatisierten Abfragen irgendwelcher Art an das Google-System. Wenn Sie Recherchen über maschinelle Übersetzung, optische Zeichenerkennung oder andere Bereiche durchführen, in denen der Zugang zu Text in großen Mengen nützlich ist, wenden Sie sich bitte an uns. Wir fördern die Nutzung des öffentlich zugänglichen Materials für diese Zwecke und können Ihnen unter Umständen helfen.
- + *Beibehaltung von Google-Markenelementen* Das "Wasserzeichen" von Google, das Sie in jeder Datei finden, ist wichtig zur Information über dieses Projekt und hilft den Anwendern weiteres Material über Google Buchsuche zu finden. Bitte entfernen Sie das Wasserzeichen nicht.
- + *Bewegen Sie sich innerhalb der Legalität* Unabhängig von Ihrem Verwendungszweck müssen Sie sich Ihrer Verantwortung bewusst sein, sicherzustellen, dass Ihre Nutzung legal ist. Gehen Sie nicht davon aus, dass ein Buch, das nach unserem Dafürhalten für Nutzer in den USA öffentlich zugänglich ist, auch für Nutzer in anderen Ländern öffentlich zugänglich ist. Ob ein Buch noch dem Urheberrecht unterliegt, ist von Land zu Land verschieden. Wir können keine Beratung leisten, ob eine bestimmte Nutzung eines bestimmten Buches gesetzlich zulässig ist. Gehen Sie nicht davon aus, dass das Erscheinen eines Buchs in Google Buchsuche bedeutet, dass es in jeder Form und überall auf der Welt verwendet werden kann. Eine Urheberrechtsverletzung kann schwerwiegende Folgen haben.

## Über Google Buchsuche

Das Ziel von Google besteht darin, die weltweiten Informationen zu organisieren und allgemein nutzbar und zugänglich zu machen. Google Buchsuche hilft Lesern dabei, die Bücher dieser Welt zu entdecken, und unterstützt Autoren und Verleger dabei, neue Zielgruppen zu erreichen. Den gesamten Buchtext können Sie im Internet unter <http://books.google.com> durchsuchen.



32101 074861657



8852

.128

~~ANNEX LIST~~

Library of



Princeton University.

Presented by  
Charles Milliston M. Alpin,  
Class of '88.









**Archiv**  
für  
**Protistenkunde**

begründet von

**Dr. Fritz Schaudinn**

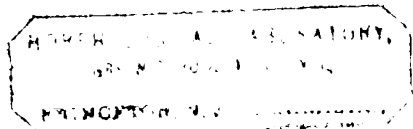
herausgegeben

von

**Dr. M. Hartmann** und **Dr. S. von Prowazek**  
Berlin Hamburg

Vierunddreissigster Band

Mit 23 Tafeln und 63 Textfiguren



JENA  
Verlag von Gustav Fischer  
1914



~~~~~  
**Alle Rechte vorbehalten.**  
~~~~~

YTSNIVMU  
VSAPELL  
A. J. H. F. O. N. P.

# Inhaltsübersicht.

## Erstes Heft.

(Ausgegeben am 28. März 1914.)

Abhandlungen:	Seite
GÄBEL, MAX: Zur Pathogenität der Flagellaten. Ein Fall von Tetramitiden-diarrhoe. (Mit Tafel 1 u. 2) . . . . .	1
BEHREND, KURT: Kurze Angaben über eine nichtpathogene Amöbe aus dem Darm von <i>Macacus rhesus</i> . (Vorläufige Mitteilung.) (Mit 8 Textfiguren) . . . . .	35
ARNDT, ARTHUR: Über generative Vorgänge bei <i>Amoeba chondrophora</i> n. sp. (Mit Tafel 3) . . . . .	39
METALNIKOV, M. S.: Les infusoires peuvent-ils apprendre a choisir leur nourriture? . . . . .	60
CONRAD, WALTER: Contributions à l'étude des Flagellates. I. 1. Stades amiboïdes et palmellaires chez <i>Mallomonas mirabilis</i> n. sp., avec un court aperçu sur la multiplication des <i>Chrysonomonadines</i> . 2. <i>Mallomonas calva</i> MASSART n. sp. (Avec Planche 4) . . . . .	79
FAURÉ-FREMIET, E.: Deux Infusoires planctoniques <i>Tontonia appendiculariformis</i> (n. gen., n. sp.) et <i>Climacostomum diedrum</i> (n. sp.). (Avec 8 figures dans le texte) . . . . .	95
FRANÇA, CARLOS: La Flagellose des Euphorbes. (Avec Planche 5 et 4 figures dans le texte) . . . . .	108

## Zweites Heft.

(Ausgegeben am 14. Mai 1914.)

Abhandlungen:	
NÄGLER, KURT: Über Kernteilung und Fortpflanzung von <i>Cercobodo agilis</i> (MOROFF) emend. SENN. (Mit Tafel 6) . . . . .	133
DOBELL, CLIFFORD: Cytological studies on three species of <i>Amoeba</i> — <i>A. lacertae</i> HARTMANN, <i>A. glebae</i> n. sp., <i>A. fluvialis</i> n. sp. (With Plates 7—11)	139
FORD, E.: On the nuclear division of a free-living limax amoeba ( <i>Amoeba tachypodia</i> GLÄSER?). (With Plate 12) . . . . .	190
MINE, N.: Beiträge zur Kenntnis der Blutparasiten der Vögel in Japan. (Mit Tafel 13 u. 14) . . . . .	198
Kleinere Mitteilung:	
MINCHIN, E. A.: Remarks on the nature of the blepharoplasts or basal granules of flagella. . . . .	212

**(RECAP)**

2 1914  
p. 34  
(4)

## Drittes Heft.

(Ausgegeben am 17. Juni 1914.)

Abhandlungen:	Seite
NERESHEIMER, EUGEN u. CARL CLODI: Ichthyophonus hoferi PLEHN u. MULSOW, der Erreger der Taumelkrankheit der Salmoniden. (Mit Tafel 15—17 und 15 Textfiguren) . . . . .	217
MOLDOVAN, J.: Untersuchungen über den Zeugungskreis des Lencocytozoon ziemanni (LAVERAN). (Mit Tafel 18 u. 19) . . . . .	249
BREEST, FRITZ: Zur Kenntnis der Symbiontenübertragung bei viviparen Cocciden und bei Psylliden. (Mit Tafel 20 u. 21) . . . . .	263
PENARD, E.: Sur quelques Tentaculifères muscicoles. (Avec 19 figures dans le texte) . . . . .	277
NÖLLER, WILHELM: Die Übertragungsweise der Rattentrypanosomen. II. Teil. (Mit Tafel 22 u. 23 und 3 Textfiguren) . . . . .	295
<b>Kleinere Mitteilung:</b>	
HARTMANN, MAX: Bemerkungen über Amoeba lacertae HARTMANN, eine Antwort an CLIFFORD DOBELL. (Mit 6 Textfiguren) . . . . .	336
MACKINNON, DORIS L.: Alteration of Name . . . . .	340

*Nachdruck verboten.  
Übersetzungsrecht vorbehalten.*

Aus der Krankenabteilung des Deutschen Instituts für ärztliche  
Mission in Tübingen.  
(Direktor Dr. OLPP, Privatdozent.)

## **Zur Pathogenität der Flagellaten. Ein Fall von Tetramitidendiarrhoe.**

Von  
**Max Gäbel.**

(Hierzu Tafel 1 u. 2.)

---

Ist im Laufe der letzten Jahre die Frage nach der Pathogenität der Amöben zu einem vorläufigen Abschluß gelangt, so besteht bei den den Flagellaten angehörigen Parasiten des menschlichen Darmes in dieser Beziehung noch viel Unklarheit. Wir denken speziell an die der Familie *Tetramitidae* BÜTSCHLI zugerechneten Flagellaten. Zwar hat auch hier die zoologische Wissenschaft in den letzten Jahren mancherlei Aufklärung gebracht; jedoch sind die Fälle, in denen derartige Parasiten Krankheitserscheinungen beim Menschen hervorgerufen haben, noch zu selten beobachtet worden, als daß ihnen die praktische Medizin bereits größeres Interesse entgegengebracht hätte. Die Frage nach der Pathogenität dieser Parasiten ist vielmehr vorläufig noch weit von ihrer Lösung entfernt (RODENWALDT, 74). Die einen Autoren halten die Gruppe der Trichomonaden für „perfectly harmless“ (DAVISON, 22), die anderen für „Erreger langdauernder Dysenterien und Anämien“. Vielleicht liegt die Wahrheit, ähnlich wie bei den Amöben, in der Mitte, d. h. es finden sich neben den selteneren pathogenen häufiger auch harmlose

parasitische Flagellaten im Darm des Menschen. „Erst auf Grund umfassenden kasuistischen Materials wird sich mit den Jahren eine entscheidende Klärung anbahnen“ (RODENWALDT, 74). Wenn wir dazu schreiten, einen Beitrag zu dieser Kasuistik zu geben, und einen genauer beobachteten Fall mitteilen, bei dem unseres Erachtens die Pathogenität des Parasiten nicht zu leugnen ist, so wollen wir gleichzeitig versuchen, an Hand des Falles zu den Fragen der Morphologie, Zellbiologie, Systematik und Pathogenität des Krankheitserregers Stellung zu nehmen.

### Krankengeschichte.

Die Patientin L. ist 1865 in Deutschland geboren. Ihre Familienanamnese ergibt nichts Bemerkenswertes (Vater verunglückt, Mutter früh gestorben, ihre vier Geschwister leben und sind gesund). Als Kind hat die Patientin Masern gehabt und einmal Ascariden. Im Jahre 1890 ging sie nach Tunis (Stadt) und machte von dort aus häufig Reisen und Märsche ins Land hinein. Nach 4 Jahren kehrte sie in die Heimat zurück. Damals war sie körperlich sehr heruntergekommen, hatte gelegentlich stärkere Durchfälle und will an Leberanschwellung gelitten haben. Als sie die ersten Durchfälle bekam, hatte sie eine Reise nach Südtunis gemacht, wo man sogenanntes brackwater trinkt, das aber stets in abgekochtem Zustand von ihr genossen wurde. Noch im Jahre 1894 ging die Patientin zum zweitenmal hinaus. Seit dem Jahre 1897 hatte sie nun jedes Jahr Durchfälle, bis zu 20mal täglich. Die Defäkationen waren nicht blutig, aber blasig (gärten also deutlich), und wiesen am Schluß jedesmal weißliche Bestandteile auf. Die Diarrhöen setzten regelmäßig im Mai ein und endeten im Oktober, jährlich beginnend mit Müdigkeit und Hitzegefühl und allmählich an Zahl ansteigend. Sie wurden anfallsweise stärker und schwächer. Nie trat eine wochenlange Pause ein. Eine sonderbare Abhängigkeit von der Witterung zeigte sich insofern, als bei Schirokko die Durchfälle außerordentlich stark wurden, während bei kühler Witterung Besserung eintrat. Die Patientin hatte beim Gehen und Arbeiten heftige Schmerzen, besonders im Rücken, beim Liegen nicht, beim Stuhlgang nur wenig. Vielfach litt Fräulein L. an Aufstoßen, an Verstopfung aber nie. Während der Durchfälle vertrug sie nur Milch, Eier und Schleimsuppe; Schwarzbrot, Kohl und Obst überhaupt nicht. Zweimal hat die Patientin Beschwerden von seiten ihres Herzens gehabt, 1908 das erstemal nach einem kleinen Ausflug Schmerzen in der

Herzgegend; seitdem zeigt sich bei ihr Empfindlichkeit gegen tagelanges Liegen. Ein Jahr später 1909 litt sie eine ganze Nacht an starken Schmerzen, die das Atemholen sehr erschwerten. Sie spürte dann noch längere Zeit einen dumpfen Schmerz in der Herzgegend. Die Zeit der Durchfälle brachte sie stets sehr herunter. Sie war dann sehr zitterig, ein Zustand, der sich bei flachem Hinlegen besserte; beim Treppensteigen hatte sie auch noch immer zur Zeit ihres Aufenthaltes auf unserer Krankenstation ein Schwächegefühl. Vor 7 Jahren (1906) litt die Patientin an so schweren Durchfällen, daß der Verdacht an Cholera oder Typhus nahe lag und sie sofort nach Europa geschickt wurde; sobald sie auf der See war, besserte sich ihr Zustand bedeutend. 1909 war sie in Deutschland 2½ Monate in einem Krankenhaus in Behandlung. Ein Tumor in der Nabelgegend wurde damals vom Arzt mit dem Pankreas in Verbindung gebracht; dieser Tumor soll im Sommer dicker gewesen sein (?). Nach der Krankenhausbehandlung trat eine Besserung ein. Sie war dort mit Diät und heißen Umschlägen behandelt worden. 1910 war Fräulein L., ohne Durchfälle zu haben, auf Urlaub in der Schweiz; bei einem Ausflug trank sie Gletscherwasser, und sofort waren ihre Durchfälle wieder da. Sie hat dann auch in den Sommern 1911 und 1912 ihre Durchfälle in Tunis gehabt. Seit Ende Juli 1912 ist sie wieder in Deutschland.

Am 16. Oktober 1912 kam die Patientin in unsere Behandlung. Sie klagte damals, abgesehen von den Durchfällen, über Schmerzen beim Liegen auf dem Rücken, und zwar über Schmerzen im Rücken und Epigastrium, d. h. in der Nähe der Flexura coli sinistra.

### Befund.

Patientin sieht schwach und anämisch aus.

Puls 96.

Größe 159 cm, mit Schuhen, Gewicht 62,1 kg, mit Kleidern.

Zähne: oben Prothese.

Zunge belegt, links in Fünfpfennigstückgröße frei; im Speichel Rhodankalium vorhanden.

Körperbau zart, Muskulatur mittel, Haltung gerade.

Lunge: Spitzen voll; l. h. u. einige trockene Reibegeräusche, sonst auskultatorisch und perkutorisch keine Besonderheit.

Herz: Töne rein, Grenzen nicht verbreitert, Spitzenstoß im 5. I. K. R. l.

Blutbefund am 18. X. 1912: Polynucleäre 60%, Lymphocyten 32%, große Mononucleäre 1,34%, Eosinophile 6,66%, also leichte Eosinophilie.

Hämoglobingehalt 80% (TALLQVIST).

Abdomen im rechten Hypogastrium vom Mac Burney aufwärts bis zum Rippenbogen und in der Magengegend druckempfindlich. In der Nabelgegend fühlt man eine fünfmarkstückgroße Verhärtung. Die Bauchdecken sind darüber verschieblich. In der Achselhöhle und in den Claviculargruben sind keine Drüsen fühlbar. Das Röntgenbild des Magens bei Wismutbreiinhalt ergab völlig normale Verhältnisse.

Magenuntersuchung. Die Magenaushebung nach Probefrühstück ergibt freie Salzsäure 0 (Kongo), Salzsäuredefizit 7 (Kongo), Gesamtacidität 15 (Phenolphthalein), Milchsäure 0 (Eisenchlorid), Milchsäurebakterien waren vorhanden.

Leber und Milz o. B.

Urin frei von Eiweiß und Zucker.

Stuhl diarrhoisch, dunkel, nicht stark fäkulent, kein Blut (WEBER).  
Vierter Stuhl nach Beginn der SCHMIDT-STRASSBURGER'schen Probediät.

1. Geruch: wenig fäkulent. Konsistenz: zum Teil noch eben geformt, zum Teil dünnflüssig. Farbe: hellbraungelb, keinerlei grobe Beimengungen von Schleim oder Blut. Spärliche Blasenbildung, kein auffallender Glanz; mittlere Menge.

2. Im verriebenen Stuhl fanden sich makroskopisch reichliche Bindegewebsreste, reichlich feinsten Schleim, spärlich Muskelfasernreste (mikroskopisch ohne Querstreifung).

3. Mikroskopisch: ohne Zusatz: keine Parasiteneier, reichlich Bindegewebe, Amöben und reichlich Flagellaten. Mit LUGOL'scher Lösung: keine gefüllten Kartoffelzellen.

4. Reaktion ganz schwach alkalisch.

Also: Insuffizienz der Magenverdauung (unverdautes Bindegewebe), Katarrh des Dünndarms.

Mit den unter 3 erwähnten Amöben und Flagellaten verhält es sich folgendermaßen: Untersucht man den frisch abgesetzten Stuhl, so finden sich Amöben und reichlich Flagellaten. Bei jenen handelte es sich um *Entamoeba coli*. War dies schon am frischen Präparat mit großer Wahrscheinlichkeit anzunehmen, so fanden sich im mit HEIDENHAIN's E. H. gefärbten Präparat wiederholt Cysten mit 7—8 Kernen. *Entamoeba tetragena* ist also ausgeschlossen (HARTMANN, 36; WERNER, 96). Die Flagellaten waren eine den Trichomonaden verwandte Gattung, auf die wir unten noch eingehend zu sprechen kommen.

### Behandlung.

Die Patientin blieb 57 Tage in unserer Behandlung. Es wurde zuerst eine Simaruba-Therapie eingeleitet vom 23. X. bis 13. XI., von zweimal täglich 10 Tropfen steigend auf dreimal täglich 20 Tropfen. Zugleich wurde eine vorsichtige lokale Wärmeapplikation auf den Leib bei Bettruhe und Diät angeordnet. Der Zustand besserte sich jedoch nicht; die *Entamoebae coli* schienen zu verschwinden, nicht so die Flagellaten. Der Magenbefund war nach einem Monat der nämliche, wie vorher beim Beginn der Behandlung. Es wurde daher nach einer eintägigen Kalomelkur (14. XI.) ein Versuch mit den von GÜRBER-Marburg (35) empfohlenen Uzartabletten gemacht, jedoch auch dies ohne jeden Erfolg (9 Pillen täglich vom 15. bis 24. XI.). Erst eine viertägige kombinierte Methylenblautherapie (per os et per clysmata) (DAVISON, 22) brachte durchgreifende Besserung. Gleichzeitig wurde Muskatnußpulver gegeben, um das Auftreten schmerzhaften Harndranges zu vermeiden (RUGE, 78). Vom 25. bis 28. XI. erhielt die Pat. täglich 1. zwei Einläufe: 0,15:500,0 Methylenblaulösung, 2. vier Kapseln nachstehenden Rezeptes:

capsul. gelatinos.  
c. methylen. coerul. med. pur.  
et Sem. Myristic.           āā 0,5

Am 26. XI. wurden zum erstenmal zwei halb feste Stühle abgesetzt (!), vom 27. ab täglich nur ein fester. Immerhin zeigten auch jetzt die festen Stühle entsprechend der Anacidität des Magens den Charakter des Gärungsstuhles (SCHMIDT-STRASSBURGER'sche Gärungsprobe), so daß zur Anregung der Salzsäureabscheidung Homburger Elisabethquelle gegeben wurde, was von dem erwünschten Erfolg begleitet war. Das Wasser wurde am 29. XI. zum erstenmal gegeben, also zu einer Zeit, wo der Stuhl schon den dritten Tag gut geformt war. Urin schön dunkelblau, ohne Eiweiß.

Nun zeigten sich am 2. XII. in dem festen Stuhl wiederum Flagellaten, am 3. XII. war der Stuhl wieder halbweich, so daß eine Wiederholung der Methylenblaukur ratsam schien, und zwar eine verstärkte: vom 4. bis 6. XII. achtmal täglich 0,1 (d. h. 2 Pillen). Diese Methylenblaukur wurde ohne Beschwerden seitens der Pat. vertragen. Es verschwanden nun die Parasiten wieder, und die Stühle blieben stets fest. Das Gewicht der Pat., das bei uns während der Simaruba-Behandlung von 62,1 kg auf 60,0 kg gesunken



war, stieg wieder auf 62,3 kg. Der oben erwähnte Tumor im Epigastrium war nicht mehr fühlbar. Im festen wohlgeformten Stuhl fand sich nur noch selten ein lebender Flagellat.

Die Temperaturkurve bot während der Behandlung kein ganz regelmäßiges Bild, blieb aber, abgesehen von 3 Tagen (37,0°, 37,1° und 37,2°), stets unter 36,8° unter der Achsel gemessen (auch abends). Das Blutbild hatte sich im Laufe der Behandlung zur Norm gebessert: Polynucleäre 69%, Lymphocyten gr. 7%, kl. 17%, große Mononucleäre 5%, Eosinophile 1,5%, Basophile 0,5%. Am 11. XII verließ die Pat. unsere Krankenstation. Für den Fall einer Wiederkehr der Durchfälle wurde eine neue Methylenblaukur empfohlen und ihr das Medikament mitgegeben. Noch im Winter 1912/13 kehrte die Pat. nach Tunis zurück.

Am 2. IX. 1913 stellte sich Fräulein L. wieder bei uns vor. Sie hatte auch in diesem Jahre an Durchfällen gelitten. Diese stellten sich aber wesentlich später ein als in früheren Jahren, erst Ausgangs Juni, früher Anfang oder Mitte Mai; ebensowenig erreichten sie in diesem Jahre ihre alte Heftigkeit. Sie hatte zweibis dreimal täglich, sehr selten viermal Entleerung, während in früheren Jahren die Zahl der Durchfälle bis auf 20 täglich gestiegen war. Vor allem aber fehlte in diesem Jahr das schlechte Befinden, die Müdigkeit und die Abgespanntheit vollständig. Ein Laie urteilte, sie sei ein ganz anderer Mensch. Die Pat. blieb nur 8 Tage zur Beobachtung bei uns und hatte in dieser Zeit täglich ein bis drei feste oder festweiche Stühle. In den frisch entleerten Fäces waren harmlose Amöben vorhanden, während keine Flagellaten gefunden werden konnten. Eine besondere Therapie wurde nicht eingeleitet. Die Pat. befindet sich seit Ende September wieder in Tunis.

---

### Zur Morphologie und Physiologie des Flagellaten.

Zuerst war es schwer, an den frischen Präparaten, in denen sich die Flagellaten in großer Geschwindigkeit bewegten, ein klares Bild zu erhalten; dies gelang erst, als die Präparate kalt geworden und die Beweglichkeit dadurch wesentlich vermindert war. Wir hielten diese Flagellaten erst für *Trichomonas intestinalis* LEUCKART 1879. Erst eingehende Untersuchungen brachten uns zu der Überzeugung, daß es sich nicht um *Trichomonas* handeln könne, sondern

daß wohl eher die Gattung *Tetramitus* ALEXEJEFF vorliege. Wir wollen nun, ehe wir auf diese systematischen Fragen näher eingehen, zunächst den Befund an den Flagellaten selbst schildern.

### Zur Morphologie.

Der Flagellat hat einen kleinen, birnförmig-ovalen Körper und ist gewöhnlich  $6,5-8 \mu$  lang,  $5-6 \mu$  breit; die Größenschwankungen sind gering (s. Tabelle). Diese birnförmige bis ovale Gestalt ist sehr konstant; irgendwelche metabolische Veränderungen konnten wir nicht wahrnehmen.

### Protoplasma.

Das Protoplasma läßt zwei verschiedene Differenzierungen erkennen, die in ihrem optischen Eindruck dem glasig-homogenen Ectoplasma und dem körnigen Entoplasma anderer Protozoen entsprechen, jedoch nicht peripher bzw. zentral liegen; vielmehr nimmt das Entoplasma den weitaus größten Teil des eigentlichen Körpers ein. Erst kurz vor dem Ansatz des spitzen hinteren Endes des Körpers beginnt die Ectoplasmaschicht, die dann auch den Schwanzfortsatz bildet. Nach BRUMPT's Zeichnungen weisen seine Flagellaten eine ähnliche Differenzierung des Protoplasmas auf, bei der Beschreibung erwähnt er jedoch nichts davon (vgl. Fig. 21). Die Mengenverhältnisse der Protoplasmaarten zueinander sind nicht konstant, jedoch überwiegt stets das Entoplasma wesentlich. Im Protoplasma sind vielfach Nahrungsvacuolen mit Bakterien als Einschlüssen zu sehen. An den gefärbten Präparaten zeigt das Protoplasma die bekannte, feine Wabenstruktur. Bei einigen wenigen GIEMSA-gefärbten Exemplaren ist noch die Protoplasma differenzierung zu erkennen (vgl. Fig. 2).

### Kern.

Am lebenden Tier trat der Kern nicht in Erscheinung, dagegen findet man ihn bei gefärbten Präparaten stets ganz hart vorn am stumpfen Ende des Tieres. Seine Größe beträgt etwa ein Drittel bis ein Viertel der Tierlänge; er ist chromatinarm. In bezug auf den morphologischen Aufbau bietet er kein ganz einheitliches Bild: stets ist er völlig rund und zeigt eine doppelt konturierte, stark gefärbte Membran; während jedoch meist ein ebenfalls stark gefärbter Binnenkörper vorhanden ist, läßt sich an einer Reihe sonst gut gefärbter Präparate gar keine Differenzierung der von der Kern-

membran umschlossenen Masse wahrnehmen, obwohl die Membran sich auch nach innen scharf absetzt (vgl. Fig. 2). Ist ein Binnenkörper vorhanden, so liegt dieser nicht immer zentral, sondern öfter an der Peripherie, der Kernmembran anliegend (vgl. Fig. 1, 3 u. 4).

#### Bewegungsorganellen.

Als solche dienen lediglich drei Geißeln, welche vorn in der Mitte des stumpfen Endes ansetzen und vom Ursprung an getrennt sind. Es muß hierbei erwähnt werden, daß an den gefärbten Präparaten vereinzelt Bilder anzutreffen sind, die das Vorhandensein einer vierten Geißel, kleiner als die drei anderen, vermuten lassen, doch ist dies nicht mit Bestimmtheit zu sagen (vgl. Fig. 2). Die Geißeln inserieren an einem Basalkorn, das vor dem Kern liegt. Es mag darauf hingewiesen werden, daß dies schwer festzustellen ist, da der Kern, wie oben erwähnt, stets scharf an dem vorderen Ende des Tierkörpers liegt, und es konnte fraglich sein, ob die Geißeln nicht kernendogenen Ursprungs sind; wir glauben jedoch, ein Basalkorn stets annehmen zu müssen, wenn es auch nur in wenigen Fällen zweifellos sicher nachzuweisen ist, sei es, daß es sich als kleines Knötchen über dem stumpfen Körperende vorwölbt, sei es, daß es in einer anderen Ebene als der Kern liegt. Ob es aber ein oder zwei Basalkörper sind, kann nicht einwandfrei gesehen werden. Die Geißeln haben sich an den E.-H.-gefärbten Präparaten nur in wenigen Fällen erhalten, da es hier einer Fixierung in sehr heißer Flüssigkeit bedarf; BENSEN (5) fand übrigens das Gleiche. Um so besser waren die Resultate mit der GIEMSA-Färbung. Die Größenbestimmung der Geißeln ist jedoch auch an diesen letztgenannten guten Präparaten schwierig, weil die Geißeln in die um die Flagellaten herumliegenden Fäcesmassen oft hineinreichen. Bei günstig gelegenen Parasiten ergibt sich, daß sie gewöhnlich Körperlänge und mehr besitzen, ja bis zu doppelter Körperlänge sind sie stellenweise zu finden. Eine undulierende Membran, wie sie gerade bei den parasitisch lebenden Flagellaten so oft vorhanden ist (DORLEIN, 25), existiert nicht.

#### Stützsubstanzen.

Die die Körperform währenden Zellteile sind wenige und einfachster Art. Es ist lediglich eine ziemlich feste Pellicula vorhanden. Da einerseits das Protoplasma seines flüssigen Aggregatzustandes wegen stets bestrebt ist, Kugelform anzunehmen und andererseits, wie wir bereits oben erwähnt haben, keine metabo-

liche Formveränderung stattfindet, so können wir daraus schließen, daß diese Pellicula straff-elastischer Konsistenz ist, um so mehr als jegliche andere Stütze fehlt.

Es mag hier der Schwanzfortsatz seine Erwähnung finden. Dieser zeigt sich im Leben als hyalines Anhängsel, dem anscheinend keine eigene Beweglichkeit zukommt. An gefärbten Präparaten ist er stets intensiv gefärbt und steht als spitz zulaufender Stachel meist in der Längsachse des Körpers, selten im stumpfen Winkel hierzu. Seine Größe ist schwer zu bestimmen, da an gefärbten Präparaten oft die Spitze abgebrochen, oft aber auch unter Fäcesmassen verborgen liegt. Es kommen jedoch auch eine Reihe Formen vor, wo er von Natur weniger ausgebildet ist. Gewöhnlich beträgt er  $\frac{1}{2}$ — $\frac{3}{4}$  der Körperlänge und mehr. Ob dieser Stab ein pellicularer Stiel ist und als Haftorgan Dienste leistet, erscheint uns sehr zweifelhaft. In der Literatur finden wir mehrfach Angaben, daß Trichomonasformen mit einem Schwanzfortsatz (pseudopodienartig?) an Epithelien und Fäcesstücken festhaften, „often adherent by a gelatinous tail-like prolongation of the posterior extremity of the body“ (KENT, 44). Auch MARCHAND (53), MIURA (59) und DOCK (24) haben hiervon berichtet. Von uns wurde nie etwas Ähnliches beobachtet.

Innere Skelettbildungen, wie sie bei den Flagellaten häufig sind, fehlen bei unseren Parasiten völlig.

### Cytostom.

Zur Nahrungsaufnahme dient das am vorderen Ende direkt neben dem Kern gelegene, geräumige Cytostom. Am lebenden Tier gibt es diesem sein charakteristisches Bild, wenn sich der Flagellat bei seiner großen Geschwindigkeit bald von vorn, bald von der Seite zeigt. Die rasch skizzierten Umriss des Tierkörpers während der Bewegung mögen dies veranschaulichen (vgl. Fig. 10—13). Das Cytostom ist erweiterungsfähig und tief eingebuchtet. Es erstreckt sich bis zur Körpermitte und darüber hinaus. Am gefärbten Präparat sind die Ränder des Cytostoms stark gefärbt, so daß wir schon dachten, ob nicht etwa eine Geißel das Cytostom vielleicht umsäumt. Diese starke Randfärbung ist auch in den Fällen vorhanden, wo wir die kleine vierte Geißel finden, so daß diese nicht eine losgelöste Randgeißel sein kann. Einen undulierenden Cytostomrand, wie ihn RODENWALDT (74) fand, entdeckten wir nicht.

## Zur Physiologie.

### Nahrungsaufnahme.

Schon das Vorhandensein eines Cytostoms läßt vermuten, daß es sich um einen plasmophagen Parasiten handelt. Die Geißeln „geißeln“ offenbar alles, was ihnen in den Weg kommt, heran. Anscheinend entwickelt dann der Parasit eine elektive Fähigkeit, indem er nur Bakterien aufnimmt; eine vollkommene Klarheit hierüber ist nicht zu erlangen. Ist nun die Nahrung durch das Cytostom vom Körper aufgenommen, so scheint sie in einer Nahrungsvacuole am hinteren Ende des Körpers verarbeitet zu werden. Geformte Fäces oder eine Cytopyge sind nicht zu entdecken.

### Bewegung.

Hat der Flagellat im Präparat „freie Bahn“, so dreht er sich bei der Vorwärtsbewegung lediglich um sich selbst, arbeitet er sich jedoch durch Fäcesmassen hindurch, so kommt zu dieser bekannten propellerartigen Bewegung so vieler Flagellaten noch eine eigenartige Schraubenbewegung, wobei er, kaum zum Vorschein gekommen, wieder unter den Kotmassen verschwindet. Die Bewegungsleistung beläuft sich auf 4—5  $\mu$  in der Sekunde. Dabei möchten wir daran erinnern, daß wir in der Literatur verwandter Arten nur eine einzige Geschwindigkeitsbestimmung fanden, und zwar von LAMBL (48) aus dem Jahre 1859, die wir wegen ihrer Ungeheuerlichkeit erwähnen möchten: *Cercomonas* lege 1 cm in 8—10 Sekunden zurück, das bedeutet 1000—1250  $\mu$  in der Sekunde, während die *Cercomonas* selbst nur 8—14  $\mu$  groß ist.

### Fortpflanzung.

Vornehmlich sind es die Fortpflanzungsfragen, welche es veranlassen, daß die Protistengruppe der Flagellaten zurzeit so im Vordergrund der Protozoenforschung steht.

Es muß vorausgeschickt werden, daß wir am lebenden Objekt gar keine Entwicklungsphasen beobachtet haben; was wir berichten können, stammt lediglich von gefärbten Präparaten, und wir sind uns der Unzulänglichkeit in der Wertung dieser Bilder wohl bewußt.

Wir finden drei Formen, die wir für Gebilde halten möchten, welche in die Entwicklungsreihe dieser Flagellaten gehören:

1. einfache Teilung,
2. isogame Kopulation,
3. Autogamie.

### 1. Einfache Teilung.

Die Bilder der einfachen Teilung sind die seltensten von allen drei Arten und uns nur einigemal begegnet. Ob es sich hier um Quer- oder Längsteilung handelt, möchten wir nicht entscheiden, denn an sich ähneln diese Formen mehr denen der Querteilung, die jedoch bei den Flagellaten überaus selten und bei dem ganzen Bau des Tieres nicht anzunehmen ist (DOFLEIN, 25). Nun können ja Schlußstadien der Längsteilung Bilder ergeben, welche stark an Querteilung erinnern. Fig. 6 kann z. B. als eine von vorn gesehene Längsteilung gedeutet werden, zumal da der Schwanz nicht in gleicher Ebene mit den beiden Kernen liegt; von der Seite gesehen, würde das Bild dann der nebenstehenden Skizze (Fig. 6a) entsprechen. Es handelt sich zweifellos um ein Schlußstadium, da die Geißeln schon voll entwickelt sind. Es könnten jedoch derartige Stadien auch der Anfang einer isogamen Copulation (siehe unten) sein, zumal da wir nie ein amöboides Vorstadium hierfür, wie es von den Trichomonaden beschrieben ist (SCHAUDINN, 80), haben feststellen können.

### 2. Isogame Copulation.

Wenn uns die soeben beschriebenen Formen zweifelhaft in ihrer Deutung erscheinen, so haben wir andere Formen beobachtet, die eine weitere Stufe in der isogamen Copulation darstellen (s. Fig. 7). Diese ähneln sehr stark jenen bei Flagellatenuntersuchungen im Rattendarm von v. PROWAZEK (71) gefundenen Stadien. Zwei starke Chromatinmassen liegen in der von einer unscharfen Linie geteilten Zelle, welche auch am Rande deutlich Einkerbungen als Zeichen dafür erkennen läßt, daß es vorher 2 Zellen waren. Von Geißeln oder anderen Zellteilen kann man in dem Protoplasma nichts Sicheres wahrnehmen.

### 3. Autogamie.

Häufiger, zum Teil wesentlich häufiger als diese zwei soeben besprochenen Entwicklungsformen finden wir Cysten mit hyalinem großem Innenkörper, „Reservestoffkörper“, der von einem dünnen Ring von körniger Substanz mit mindestens zwei Kernen umgeben ist; wir glauben hierin die schon von so manchem Autor beschriebenen Autogamiecysten, von denen es bis jetzt nicht feststeht, daß sie in den Entwicklungskreis gehören, zu sehen. Wir finden diese Cysten in allen Präparaten, zwar selten in den ersten, häufig dagegen in denjenigen, die nach der zweiten Methylenblautherapie angefertigt wurden, in denen andererseits gar keine vegetativen Formen des

Parasiten zu finden sind. Wir folgern daraus, daß beim Einwirken dieser Schädlichkeit sich gerade diese Cysten zu entwickeln suchen; darauf deutet ja wohl auch der Reservestoffkörper hin, der doch die Cysten zu besonders langem Leben fähig zu machen scheint. Es können diese Cysten auch auf dem Wege der isogamen Copulation entstehen (SCHAUDINN, 80). Wir möchten hervorheben, daß ein Drittel dieser Cysten sich als Doppelcysten fanden. Wir sind deshalb der Meinung, daß die Entscheidung, ob sich eine oder zwei Cysten bilden, von wichtigeren Umständen abhängig ist, als von einer Zufälligkeit, wie BENSEN (5) es will. Über diese Cysten, diese „sonderbaren Körper“, wie die alte Literatur sagt, herrscht noch jetzt sehr große Meinungsverschiedenheit. v. JAKSCH (39), MAY (56), ROOS (75), KRUSE u. PAQUALE (47), SCHÜRMYER (86), QUINKE (73), ZABEL (98, 99), SCHAUDINN (80), UCKE (90), v. PROWAZEK (71, 72), BENSEN (5) und andere haben diese Gebilde gesehen, mehr oder weniger gut beschrieben und sich entweder gar keine Anschauung über ihre Natur gebildet oder sie in Zusammenhang mit den Trichomonaden gebracht. Erst DOBELL (23), WENYON (95), ALEXEIEFF (3) und BRUMPT (13) haben diese Zugehörigkeit in Zweifel gezogen, und diese Formen überhaupt aus dem Tierreich ins Pflanzenreich verwiesen als *Blastocystis enterocola*, „ohne allerdings genügend stichhaltige Gründe für diese Anschauung anführen zu können, zumal da von v. PROWAZEK 1911 die Encystierungsvorgänge am Leben beobachtet worden sind“ (JOLLOS, 41). WENYON (95) macht darauf aufmerksam, daß diese Gebilde in jedem Stuhl zu finden seien; dies scheint uns aber bei der verhältnismäßig seltenen Erwähnung dieser auffälligen, eigenartigen Formen zweifelhaft. Wenn WENYON glaubt, daraus, daß er bei seinen Patienten wohl diese Cysten, nicht aber *Trichomonas* fand, Schlüsse auf ihre Nichtzusammengehörigkeit ziehen zu können, so mag nur daran erinnert werden, wie sehr sich oft Frühstadien der Entwicklung auch höchstorganisierter Tiere gleichen, so daß es sehr wohl möglich erscheint, daß diese Cysten auch von dem von ihm gefundenen *Tetramitus* stammen könnten.

Die Tatsache, daß sehr ähnliche Vorgänge, wie sie sich bei den Hefearten finden, auch bei diesen Flagellatenentwicklungsstufen vorkommen, gibt noch nicht die Berechtigung, daraus die sichere Behauptung aufzustellen (ALEXEIEFF, 3), daß diese Formen nichts mit den Flagellaten zu tun hätten, sondern Blastomyceten seien; es wäre nicht das erstemal, daß sich sehr große Ähnlichkeiten in der niedrigsten Tier- und Pflanzenwelt ergeben. Allen diesen Einwänden steht außerdem gegenüber, daß, wie oben erwähnt, v. PROWAZEK (72)

am Leben die Entwicklung der *Trichomonas*, vor allem der *Trichomonastix* hat verfolgen können. Wenn dies DOBELL (25) selbst noch nicht sah, so ist er damit nicht berechtigt, diese Vorgänge als „still undemonstrated“ zu betrachten.

Es ist noch zu bemerken, daß in einem Teil der Präparate sehr leicht der Reservestoffkörper herausfällt, wohl infolge stärkerer Schrumpfung: so kommen dann jene siegelringähnlichen Formen zustande, die UCKE (90) beschreibt.

Eine Autogamiecyste mit kleiner Tochtercyste scheint außerordentlich selten zu sein; es liegt nur ein einziger von uns beobachteter Fall vor (PROWAZEK, 71; RODENWALDT, 74).

### Systematik.

Ehe wir zur systematischen Einordnung unseres Parasiten kommen, müssen wir einiges über die Nomenklatur der Ordnungen und Gattungen sagen. Wir halten uns an die von KLEBS (1892) und BLOCHMANN (1895) aufgestellten 5 Ordnungen der Flagellaten. Die 2. Ordnung von diesen 5 ist

*Polymastigina* BÜTSCHLI u. BLOCHMANN,

welcher wiederum 2 Familien angehören:

1. *Tetramitidae* BÜTSCHLI.
2. *Polymastigidae* BÜTSCHLI.

In dem Teil (16. Lief.) von KOLLE-WASSERMANN'S neuester Auflage, der den Überblick über die Protozoen bringt und 1912 erschien, werden 4 Gattungen aufgezählt, die zu der Familie der *Tetramitidae* gehören:

*Costia* LECLERQ.  
*Monocercomonas* GRASSI.  
*Trichomonas* DONNÉ.  
*Macrostoma* ALEXEIEFF.

Es stellte sich nun heraus, daß dieser letzte Gattungsname schon viermal vergeben war. Er wurde deshalb von ALEXEIEFF in *Tetramitus* umgeändert. Daher kommt es, daß in dem Teil von KOLLE-WASSERMANN (49. Lief.), in dem eine genaue Beschreibung der Flagellaten folgt und der 1913 erschien, schon der Name *Tetramitus* ALEXEIEFF 1910 als Gattungsname erscheint.

Es erübrigt sich, genauer auf die grob-systematische Stellung unseres Flagellaten einzugehen. Kurz gesagt ist sie folgende:



Klasse: *Mastigophora* DIESING.

1. Unterklasse: *Flagellata* COHN em. BÜTSCHLI.

2. Ordnung: *Polymastigina* BÜTSCHLI u. BLOCHMANN.

1. Familie: *Tetramitidae* BÜTSCHLI.

Zu entscheiden bleibt uns jetzt noch die Gattung. Ein Blick auf die morphologische Beschaffenheit unseres Parasiten lehrt uns, daß die Gattung *Costia* und die Gattung *Monocercomonas* nicht in Frage kommen, so daß es sich bei der Bestimmung am ehesten um *Trichomonas* oder *Tetramitus* handeln könnte.

Wir glaubten zuerst, wie oben erwähnt, eine *Trichomonas* vor uns zu haben. WENYON (95) und v. PROWAZEK (77) erging es ähnlich. Es muß bei der großen, sich öfter widersprechenden Literatur über diese Flagellatenfamilie gesagt werden, daß wir uns an die von JOLLOS (41) 1913 gegebene, genaue Beschreibung von *Trichomonas* halten.

Bei unserem Parasiten fehlt die für die Trichomonaden typische undulierende Membran, was ja allerdings auch bei der *Trichomastix* der Fall ist; jedoch ist dann stets eine vierte Geißel vorhanden, die in Gestalt einer außerordentlich langen Schleppgeißel nach hinten gerichtet ist. Unser Flagellat hat nur drei Geißeln, die fragliche vierte Geißel ist sehr klein und kommt als Schleppgeißel gar nicht in Betracht; der Schwanzfortsatz hat seiner ganzen Morphologie nach nichts mit einer Geißel gemeinsam (s. o!).

Neben der undulierenden Membran ist auch der Achsenstab „baguette intern“ (LAVERAN et MESNIL, 49), der „bastoncello“ GRASSI'S (32) charakteristisch für die Trichomonaden, da ihre Pellicula nicht so widerstandsfähig ist. Er ist schon am lebenden Präparat, erst recht aber am mit E.-H. gefärbten Präparat deutlich zu sehen (WENYON, 94; v. PROWAZEK, 71). Von diesem inneren Skelet ist keine Andeutung bei unserem Flagellaten vorhanden; er erhält seine Form lediglich durch die straffe Pellicula. Hiermit hängt auch seine Formbeständigkeit zusammen, während bei *Trichomonas* Metabolie üblich ist.

Der Kern von *Trichomonas* liegt im vorderen Drittel des Tierkörpers, bei unserem Protozoon ganz terminal, scharf am Rand. Neben dem Kern weist es ein äußerst geräumiges Cytostom auf, das bei dem sich lebhaft bewegenden Tier gleich ins Auge fällt, beim fixierten und gefärbten Präparat bisweilen infolge seiner Lage nicht zu sehen ist. Es ist wesentlich ausgeprägter als der „sichelartige Spalt“ der Trichomonasarten.

Nie konnten wir irgendwelche amöboide Beweglichkeit wahrnehmen, die von so vielen Autoren (BLOCHMANN, 7) bei *Trichomonas* beschrieben wird. Gemeinsam haben beide Gattungen, abgesehen von allen den Eigenschaften, die ihnen als *Tetramitidae* eigen sind, vor allem jene Autogamiecysten.

Wir glauben zur Genüge Verschiedenheiten wichtigster Art angeführt zu haben, um darzutun, daß es sich um zwei verschiedene Gattungen handelt, daß also unser Flagellat nicht in die Gattung *Trichomonas* gehört. Es bleiben uns dann für die beschriebenen Cysten drei Erklärungen:

1. Es könnte eine Mischinfektion vorliegen: unter den mehreren hundert Flagellaten, die lebend oder gefärbt von uns beobachtet wurden, hätte sich dann doch bei der zum Teil verhältnismäßig großen Zahl dieser Cysten wenigstens eine echte *Trichomonas* zeigen müssen; das war aber nicht der Fall, so daß wir eine Mischinfektion ausschließen können.

2. Wir könnten mit DOBELL, WENYON, ALEXEIEFF und BRUMPT annehmen, daß diese Gebilde nicht in den Entwicklungskreis der Flagellaten hineingehören. Weswegen wir diese Annahme ausschließen, haben wir oben erwähnt (v. PROWAZEK'S Beobachtungen am Leben u. a.).

3. Es bleibt die Möglichkeit — und scheint uns am wahrscheinlichsten —, daß *Tetramitus* eben eine ähnliche Entwicklung durchmacht wie *Trichomonas*, was ja bei der zweifellos nahen Verwandtschaft sehr im Bereich der Möglichkeit liegt. Hierfür spricht auch der — von den Autoren allerdings im Sinn der Erklärung 2 gedeutete — Umstand, daß auch WENYON („supposed cysts of *Trichomonas*“) und BRUMPT („anciens kystes de *Trichomonas*“) diese Formen in den Stühlen mit *Tetramitus* fanden.

Es handelt sich nun darum, zu prüfen, wieweit unser Flagellat in die Gattung *Tetramitus* paßt. Von dieser Gattung sind bis jetzt beschrieben worden: *Tetramitus caulleryi* ALEXEIEFF und *Tetramitus mesnili* (beide ursprünglich *Macrostoma* genannt), welcher beim Menschen zuerst von WENYON (95) 1910 gefunden wurde. v. PROWAZEK (77) beschrieb 1911 einen ähnlichen Parasiten unter dem Namen *Fanapepea intestinalis*. Ferner glauben wir, auch die von MARTIN u. ROBERTSON (54) beschriebene *Chilomastix gallinarum* hierher rechnen zu dürfen.

Nach WENYON wurde *Tetramitus mesnili* noch dreimal beim Menschen beschrieben: ALEXEIEFF (2) 1910, NATAN-LARRIER (62) 1912, BRUMPT (13) 1912.

WENYON fand einen Parasiten (vgl. Fig. 19) *Trichomonas*-ähnlich (except that the undulating membran so characteristic of this genus appeared to be absent), mit weitem Cytostom, drei Geißeln und einer undulierenden Membran (oder vierten Geißel) im Cytostom, die man erst bei genauer Beobachtung bemerkt. Der Kern hat eine deutliche Membran, einen oder mehr Chromatinklumpen im Zentrum oder an der Oberfläche der Kernmembran. Ein oder zwei Chromatingranula sind als Basalkörner vorhanden. Das hintere Körperende ist meist sehr spitz ausgezogen. WENYON fand Formen, die den „*Trichomonas*-Cysten“ sehr ähnlich sind, und er suchte nach Trichomonaden: „a most carefull search failed to reveal any *Trichomonas*“; dagegen fand er Zwischenformen („intermediate forms“) zwischen Flagellaten und Cysten.

ALEXEIEFF schildert seinen *Tetramitus (Macrostoma) caulleryi* mit drei Geißeln und einem langen hinteren Ende; der Kern liegt direkt am vorderen Körperende an. Über das charakteristische Cytostom sagt er: „un cytostom très grand, descendant presque jusqu'au milieu du corps“.

NATTAN-LARRIER schreibt über seinen Befund kurz folgendes: der Flagellat ist durchschnittlich  $9,3 \mu$  lang und  $2,5-4,5 \mu$  breit. Der Schwanzfortsatz ist bei fast allen sehr lang, der Kern ganz vorn gelegen, mit der Peripherie in Berührung, so daß die beiden Basalkörner schwierig zu unterscheiden sind. Ob NATTAN-LARRIER eine vierte Geißel im Cytostom sah, bleibt uns unklar. Er schreibt: „Le flagelle qui parcourt le cytostome, en précise les contours et se colore en un noir très foncé“. Seine Zeichnungen (vgl. Fig. 20) aber lassen mit keinem Strich eine Geißel im Cytostom erkennen, ebensowenig BRUMPT bei seinen sonst so genauen Zeichnungen (vgl. Fig. 21). Von beiden ist der Rand des Cytostoms stark und kräftig gezeichnet, so daß wir wohl annehmen können, daß die Autoren diesen Rand für eine Geißel ansehen, worauf auch die geschwungene Begrenzung des Cytostoms schließen läßt.

BRUMPT beschreibt nur die Krankheitserscheinungen, ohne den Parasiten näher zu schildern, er gibt aber an, es sei ebenderselbe, den auch NATTAN-LARRIER beschrieben habe. BRUMPT glaubt nun, daß denselben Flagellaten schon DAVAINÉ sah und daß die schlechte Beschreibung unter dem Namen *Cercomonas hominis* schuld daran sei, daß andere Autoren ihn den Trichomonaden zugerechnet hätten. Leider führt BRUMPT für diese Anschauung keinen Grund an, was wirklich interessant wäre, weil DAVAINÉ'S Beschreibung (20, 21) ebensowenig auf *Tetramitus* wie auf *Trichomonas* paßt. Wenn mau

DAVAINE's Flagellaten gern unterbringen will, so sind wir eher geneigt, die ebenfalls von WENYON 1910 gefundene *Cercomonas hominis* mit ihm zu identifizieren — woran WENYON allem Anschein nach auch bei der Benennung dachte.

1911 fand v. PROWAZEK auf Samoa einen Flagellaten, den er unter dem Namen *Fanapepea intestinalis* (vgl. Fig. 18) veröffentlichte: langer Schwanzfortsatz<sup>1)</sup>, zwei Basalkörner mit zwei Geißeln, ein bläschenförmiger, chromatinarmer Kern, ein geräumiges, sackförmiges Vestibulum, in dem von einem dritten Basalkorn aus eine undulierende Membran verläuft. Er folgert hieraus: „Die undulierende Membran der Trichomonaden stand ursprünglich als ein Strudel- und Lippenorganell direkt im Dienst der Nahrungsaufnahme und trat erst mit einer sekundären Verbreiterung des Vestibulums und einer späteren Ummodifizierung des Mundspaltes auch in den Dienst der Lokomotion.“

Die *Chilomastix gallinarum* wird von MARTIN und ROBERTSON mit vier Geißeln geschildert, die von vier Granula ausgehen. Vom Cytostom heißt es: „which is one of the most characteristic features of this genus“. Weiter wird dieser Parasit beschrieben mit den Worten: „The nucleus lies near the anterior pole of the animal, in close proximity to the opening of the pharynx, so that in the majority of specimens it obscures the origin of the four flagella.“ Ein Achsenstab ist nicht vorhanden. Wir sehen, daß die *Chilomastix* die Charakteristika von *Tetramitus* besitzt.

Wie weit paßt nun unser Flagellat in diese Gattung?

Von WENYON und ALEXEIEFF unterscheidet er sich durch das Fehlen der im Cytostom gelegenen undulierenden Membran, von v. PROWAZEK außerdem noch durch das Vorhandensein von drei statt zwei Geißeln. Mit NATTAN-LARRIER's und BRUMPT's Parasiten sowie auch mit der allerdings beim Menschen nicht beobachteten *Chilomastix* besitzt er große Ähnlichkeit. Gemeinsam hat er mit allen das große Cytostom, den langen Schwanzfortsatz, das Fehlen der großen undulierenden Membran und das Fehlen des Achsenstabes. Gemeinsam ist ferner mit den Flagellaten WENYON's, NATTAN-LARRIER's und BRUMPT's noch das Vorkommen der Autogamiecysten, wenn auch diese drei ihre Zugehörigkeit bestreiten. Ob nun unser Flagellat phylogenetisch eine Vorstufe zu WENYON's *Tetramitus mesnili* bildet, indem sich die undulierende Membran noch nicht angelegt hat, oder

<sup>1)</sup> Fig. 18 läßt den langen Schwanzfortsatz nicht erkennen, ebensowenig die zwei Basalkörner und zeigt drei Geißeln, obwohl v. PROWAZEK nur zwei beschreibt, jedoch scheint uns diese Abbildung in anderer Beziehung zur Wiedergabe am geeignetsten.

ob es ein späterer Zustand ist, in dem die undulierende Membran des Cytostoms, statt sich zum Bewegungsorganell in Gestalt einer großen undulierenden Membran umzubilden, verloren ging, diese Frage lassen wir offen.

Wir kommen also in bezug auf die systematische Einordnung unseres Parasiten zu folgendem Ergebnis: Nach der alten *Tetramitus*-Literatur gehört die undulierende Membran im Cytostom bei Abwesenheit der großen für *Trichomonas* und *Trichomastix* charakteristischen undulierenden Membran, das Fehlen eines Achsenstabes und jeder amöboiden Beweglichkeit zur Charakterisierung des Genus *Tetramitus* (*Macrostoma*). Da unser Parasit weder eine undulierende Membran im Cytostom noch die große undulierende Membran aufweist, so ist er von der alten Form *Macrostoma-Fanapepea-Chilomastix* abzutrennen und als neues Genus zu führen. Wir bringen für ihn den Namen *Difämus* in Vorschlag, der in der Literatur noch nicht benutzt ist, und möchten die von uns gefundene Art als *tunensis* n. sp. GÄBEL bezeichnen. Wir sind ferner der Ansicht, daß NATTAN-LARRIER und BRUMPT ihren Flagellaten zu Unrecht mit *Tetramitus mesnili* identifizieren, falls sie, wie wir annehmen, im Cytostom keine undulierende Membran gesehen haben.

### Pathogenität.

Wenn wir die Pathogenität unseres Flagellaten ins Auge fassen, so handelt es sich um die jahrelangen diarrhoischen Zustände, die wir ihm zur Last legen.

Es drängt sich uns nun bei dem Wort und Begriff „Flagellatendiarrhöe“ eine Fülle von Literatur voll Verworrenheit und Widersprüchen auf: wir kommen auf ein Gebiet nicht naturwissenschaftlicher Forschung und exakter Wissenschaft, sondern auf ein Gebiet medizinischer Einzelerfahrungen und Vermutungen. Wir wollen kurz die Flagellatendiarrhöe im allgemeinen besprechen. Dabei sehen wir aber wegen der ganz anderen morphologischen Beschaffenheit und biologischen Eigenschaften des Parasiten von den Diarrhöen ab, in denen einwandfrei *Lamblia* (*Megastomum*) *intestinalis* eine pathogene Rolle spielt.

JANOWSKY (40) hat 1897 in einer größeren Arbeit versucht, in die bis dahin vorliegenden Berichte etwas Klarheit und Systematik zu bringen. Er kam zu dem Schluß, daß unter besonderen Umständen die Flagellaten doch die Ursache von Diarrhöen sein könnten; als Beweis für diese Möglichkeit müßten die von ROOS, EPSTEIN,

PICCARDI und SCHÜRMYER veröffentlichten Fälle angesehen werden. Nach 1897 folgte dann eine Zeit, in der man vor allem Wert auf die diagnostische Bedeutung des Flagellatenbefundes im Magen bei Carcinom legte (COHNHEIM 16, 17; ZABEL 98, 99; HENSEN 38; STRUBE 38; ULLMANN 92; SCHMIDT 82; ROSENFELD 76; NICHOLS 63). Ihre Pathogenität wurde meist völlig in Abrede gestellt. Erst allmählich, und besonders in neuerer Zeit, mehren sich wieder Befunde, die nun heute die Frage der Pathogenität sehr umstritten machen. Wie verschieden zurzeit die Meinung hierüber ist, das sollen einige Befunde bzw. Urteile zeigen:

BILAND (6) 1905: Ein zur Sektion gekommener Flagellaten-Diarrhöenfall zeigte schwere Veränderungen des Darmes (die Mucosa war bis zu 33 mm verdickt).

WENYON (94) 1907: "not the least ill effect".

UCKE (90) 1908: „Irgendwelchen ursächlichen Zusammenhang zwischen Anwesenheit von Trichomonaden im Stuhl und etwaigen pathologischen Erscheinungen in der Darmfunktion kann ich nicht mit Sicherheit behaupten.“

DAVISON (22) 1909: "not necessarily pathogen".

CASTELLANI (15) 1909: "diarrhoea apparently caused by flagellats".

BRUMPT (13) 1912: „Trichomonas intestinalis un parasit, capable d'engendrer des entérites rebelles, se greffant souvent sur l'anciennes dysenteries.“

ESKOMEL (30) 1913: Er beschreibt eine langjährige Trichomonaden-Dysenterieepidemie in Aréquipa (Peru), die nach Entfernung des schädlichen Wassers in der ganzen Stadt sofort verschwand.

MELLO-LEITAO (57) 1913: Er berichtet von Dysenterien bei Kindern in Rio de Janeiro und kommt zu dem Schluß: "Flagellate dysentery is the most frequent form of dysentery."

Wir sehen, wie weit die Frage der Trichomonadenpathogenität noch von ihrer Lösung entfernt ist; die Frage der *Tetramitus*-Pathogenität ist bisher überhaupt kaum gestellt.

Es handelt sich um 5 Fälle:

ALEXEIEFF's (2) Patient, ein Matrose, war cholerakrank, kann also bei Besprechung dieser Frage nicht mit herangezogen werden.

WENYON (95) fand, wie er ausdrücklich bemerkt, keinerlei Beschwerden seitens des Darmes bei seinem Patienten.

Ebenso zeigten die von v. PROWAZEK (77) behandelten Eingeborenen Samoas keine Erscheinungen, die auf die Pathogenität der *Fanapepea intestinalis* hätten schließen lassen.

NATTAN-LARRIER (62) kommt zum Schluß: „il est probable, que chez notre malade son (de *Tetramitus mesnili*) rôle n'a pas été sans importance“.

BRUMPT (13) sagt: „je crois que l'on est en droit de pouvoir affirmer son rôle pathogène“.

Die beiden letzten Autoren fühlen sich zu diesem Urteil berechtigt, weil ihnen jeder Anhalt an eine andere Ätiologie fehlt, und weil sie andererseits — wenigstens NATTAN-LARRIER, BRUMPT gibt keine Therapie an — mit Chinin- und Kreosotklystieren Verschwinden der Parasiten mit gleichzeitigem Aufhören der Diarrhöen erzielten.

Wenn wir in unserem Fall die Frage der Pathogenität erörtern, so scheint uns das eine sicher, daß unser Tetramitide nicht „perfectly harmless“, nicht ein „völlig unschädlicher“ Kommensale ist.

Schon die überaus lange Dauer der diarrhoischen Anfälle, die sich über fast 18 Jahre erstrecken, läßt die Wahrscheinlichkeit aufkommen, daß es sich um einen stets vorhandenen, dann und wann bedeutend stärker werdenden Reiz handelt, und dies kann sehr gut der Einfluß solcher Flagellaten sein. Andererseits finden wir in der ganzen Vorgeschichte und in dem Befund nichts, das wir auch nur in geringem Grade für die Krankheitserscheinungen verantwortlich machen könnten. Besonders schwer fällt für die Beurteilung der Erfolg der angewandten Therapie ins Gewicht: kein einziges der bekannten Antidiarrhoika erzielte dauernden Erfolg. Auch bei uns blieb die alte, so oft bei Amöbendysenterie bewährte Simarubabehandlung ohne Erfolg, ebenso der Therapieversuch mit Uzaratabletten. Erst ein so ausgesprochenes Plasmagift wie das Methylenblau hatte die gewünschte Wirkung, besonders als es zum zweitenmal, und zwar verstärkt, gegeben war. Um den frappierenden Erfolg deutlich zu machen, sei er hier mit Datenangabe wiederholt:

am 25. Nov. Beginn der Methylenblaukur	2 flüssige Stühle,
„ 26. „ Methylenblau	2 festweiche Stühle,
„ 27. „ „	1 fester Stuhl,
„ 28. „ „	2 feste Stühle,
„ 29. „ kein Methylenblau mehr	1 fester Stuhl,
„ 30. „	1 „ „
„ 1. Dez.	1 „ „
„ 2. „ Flagellaten erscheinen wieder	1 „ „
„ 3. „ „ „ „	1 halbweicher Stuhl
„ 4. „ zweite Methylenblaukur	1 fester Stuhl,

von da ab blieb der Stuhl stets fest.

Auch gerade das Wiederaufflackern des Krankheitsprozesses bei der so streng eingehaltenen Diät ist nur im Sinn der Pathogenität zu verwerthen: vermutlich haben die von Methylenblau irgendwie nicht betroffenen Protozoen sich inzwischen vermehrt, sei es nun, daß sie in verborgenen Schleimhautfalten einen sicheren Zufluchtsort gefunden hatten, sei es, daß sie encystiert gewesen waren (NATTAN-LARRIER 62, v. PROWAZEK 72). Die Tatsache, daß nach dieser Behandlung zwar viel Cysten mit Reservestoffkörper, jedoch so gut wie gar keine vegetativen Flagellatenformen zu sehen waren, deutet darauf hin, daß sich diese Flagellaten unter der ungünstigen Einwirkung des Giftes möglichst alle in die dauerhafte Cystenform begaben („Saisondimorphismus“, v. PROWAZEK 72).

Wir glauben, daß man die pathogene Rolle unserer *Difämus*-Species nicht in Abrede stellen kann. Die zweite Frage ist nun, wie weit sich diese Pathogenität erstreckt. Können wir in den Flagellaten die Erreger dieser langjährigen Diarrhöen sehen, oder sollen wir sie nur für die lange Dauer der auf andere Weise hervorgerufenen Diarrhöen verantwortlich machen? Diese Frage, in bezug auf die Trichomonaden schon so oft behandelt, wird sich hier kaum mit Sicherheit entscheiden lassen. Jedoch wollen wir unter diesem Gesichtspunkt das Krankheitsbild einmal ins Auge fassen!

Überaus auffallend in der Anamnese ist die sommerliche Periodizität, welche sich mit scheinbar großer Regelmäßigkeit aufrecht erhielt. Sie läßt sich bis zu einem gewissen Grade erklären mit der Annahme, daß zur Sommerszeit eine Reihe Speisen genossen werden, die der Darm nicht verträgt, da er infolge der Anacidität des Magens und der stets in geringer Zahl vorhandenen Parasiten sowieso gereizt war; wenn nun auch die Patientin strenge Diät einhielt, so besserten sich die Beschwerden wohl etwas, kamen aber immer wieder, weil jetzt der Flagellat seine pathogene Rolle spielte. Erklären läßt sich allerdings so nicht, wie es kam, daß im Herbst die Durchfälle stets seltener wurden und schließlich ganz verschwanden, indessen spricht für diese Annahme, daß im Sommer 1910 die Patientin, ohne Beschwerden zu haben, in der Schweiz war, aber auf einen Diätfehler hin (Trinken von Gletscherwasser) sich die Durchfälle wieder zuzog. Wir müssen allerdings zugeben, daß sich so die Abhängigkeit von der Witterung wird schwer erklären lassen.

Vielleicht hat deshalb eine andere Erklärung mehr Wahrscheinlichkeit für sich: die Patientin bekam ihre Durchfälle Anfang Mai, wenn es heiß zu werden begann, verlor sie zu Beginn der kühlen Jahreszeit, jedoch auch dann, wenn es im Sommer kühl wurde, und



ferner auf der Seereise, während sie sich steigerten, wenn der Schirokko herrschte. Eine andere Erfahrung der Patientin ist, daß ein zu heißes Heißluftbad (allgemeines, nicht lokales) ebenfalls die Durchfälle hervorzurufen vermag. Man könnte nun daraufhin annehmen, daß eine Zirkulationsveränderung und damit eine Sekretionsstörung eintritt. Hierin wäre dann der Anstoß zu den Durchfällen gegeben. Dunkel bleibt aber auch dann noch die Wechselwirkung zwischen der Witterung und dem Flagellaten, mit der wir einerseits die Periodizität, andererseits die lange Dauer der Durchfälle erklären wollen.

Bei den soeben besprochenen Erklärungsversuchen nehmen wir an, daß das auslösende Moment für die Diarrhöen irgend etwas anderes ist, das nichts mit dem Parasiten zu tun hat, daß jedoch die einmal entstandenen Durchfälle die Entwicklung des *Difämus* so befördern, daß er für die Fortdauer der Diarrhöen sorgt. Wenn wir noch eine dritte Erklärung für das Krankheitsbild zu geben versuchen, so ist es die, daß der Parasit selbst durch die Witterungsverhältnisse indirekt — direkt wohl kaum — irgendwie beeinflußt wurde und dann erst selbst die Krankheitszustände hervorrief. So ist auch die Erklärung für das Nachlassen der Erscheinung bei kühler Witterung gegeben: es bleibt dann jedoch die Entstehung der Durchfälle durch den Gletscherwassergenuß eine offene Frage.

Wir finden außer unserem Fall nur noch einen Fall beschrieben in der ganzen Flagellatenliteratur, in dem wenigstens bis zu einem gewissen Grade die Durchfälle von der Witterung abhängig gewesen zu sein scheinen und auf der Seereise nachgelassen haben. Es ist der schon mehrfach zitierte Fall von *Tetramitus*-Diarrhöe, den NATTAN-LARRIER (62) veröffentlicht hat. Er berichtet, daß seine Patientin, die in der heißen Zeit in Indochina erkrankt war, sich auf der Seereise wesentlich gebessert hatte, und daß dann zwar auf Kho-Sam-Behandlung hin Heilung eingetreten sei, daß sie aber von Juni-September, also in der heißen Jahreszeit bei uns, einen Rückfall gehabt habe. NATTAN-LARRIER bemerkt natürlich, da er zu kurz beobachtet hat, nichts von diesem Einfluß der Witterung, und wir können ihn auch nur vermuten, da wir durch unseren Fall darauf gebracht werden. MILLOUS (58) veröffentlicht übrigens 1913 einige Bemerkungen über Dysenterie in Indochina, in denen er schreibt: "The seasonal prevalence of dysentery, which commences in April and lasts till the end of September." Abgesehen von einem Fall, wo MILLOUS einen Flagellaten gefunden haben will (als Erreger der Dysenterie), bezieht sich diese Beobachtung auf

bacilläre Dysenterie. Ebenso wenig, und vielleicht noch weniger, als wir über den Grad der Pathogenität mit Bestimmtheit uns äußern können, wissen wir über das „Wie“ Bescheid. Dazu wäre eine Untersuchung des Darmes selbst nötig. KENT (44), MARCHAND (53), MIURA (59) und DOCK (24) haben bei *Trichomonas vaginalis* ein Festhaften mit dem Schwanzfortsatz beobachtet, über *Trichomonas intestinalis* und *Tetramitus* liegen unseres Wissens keine derartigen Befunde vor, auch bei *Difämus* entdecken wir nie solche Vorgänge. Da sich dieser in der Hauptsache in den Schleimbeimengungen findet, so liegt eben doch die Vermutung nahe, daß er irgendwie in Beziehung zur Darmwand steht, der ja der Schleim direkt aufliegt.

Es bleibt nun noch die zuerst auffallende Tatsache zu erwähnen, daß sich in diesem Sommer 1913 wiederum Durchfälle zeigten; diese währten aber wesentlich kürzer und waren schwächer als in früheren Jahren, und die Patientin befand sich selbst dabei wohl. Für ihr Auftreten haben wir drei Erklärungen:

1. Die jahrelangen entzündlichen Reize und Krankheitserscheinungen sind doch wohl sicher nicht ohne Einfluß auf die anatomische und physiologische Beschaffenheit der Mucosa geblieben: denken wir an den Sektionsbefund des BILAND'schen Falles (6), von Trichomonadendiarrhöe, wo der Patient bereits 5 Jahre häufig, seit einem Jahr ständig Durchfälle hatte! So wären die diesjährigen schwachen Darmbeschwerden unserer Kranken zu verstehen.

2. Es ist aber auch denkbar, daß in einigen dauerhaften Cysten — es sei an das zahlreiche Auftreten der Cysten mit Reservestoffkörper erinnert — eine Anzahl Parasiten sich haben erhalten können, die dann ihrer geringen Zahl wegen nur schwache Diarrhöen erregt haben. Leider konnte die Patientin draußen nicht die so bewährte Methylenblaukur wiederholen, da das mitgenommene Medikament anscheinend verdorben war; denn nach Gebrauch traten schweres Unwohlsein und andere Intoxikationserscheinungen auf, was bei uns nie der Fall gewesen war.

3. Endlich wäre eine Neuinfektion in Tunis in Betracht zu ziehen.

Woher stammt nun die Infektion? Wenn wir die Literatur der Flagellatendiarrhöe überblicken, so finden wir mit verschwindenden Ausnahmen die Meinung vertreten, daß Mäuse und Ratten oder das Wasser Infektionsvermittler sind; besonders hat sich in letzter Zeit in fast beweisender Art das Wasser als Überträger herausgestellt: wir nennen nur EPSTEIN (29), CUNNINGHAM (18), QUINKE (73), SALOMON (79), ZABEL (99) und als neueste Befunde die ESKOMELS (30)

und SMITHIES (88). Wie steht es mit der Infektionsquelle bei den bisher veröffentlichten *Tetramitus*-Fällen? WENYON, ALEXEIEFF, v. PROWAZEK und BRUMPT berühren diese Frage nicht. NATTAN-LARRIER (62) sieht das Wasser, das die Kranke 3 Monate lang benutzte, als Infektionsquelle an, ein Wasser allerdings, das wirklich geeignet dazu erscheint: „cette eau était d'une extrême fétidité on y trouvait de nombreux détritüs et on avait à plusieurs reprises constaté que le puits servait d'habitat à des grenouilles et à de nombreux batraciens.“ Unsere Patientin hatte nun Gelegenheit zu beiden Infektionsarten. In Tunis hatte sie sehr viele Mäuse im Haus (in einer Nacht hat sie vier totgeschlagen); ferner hat sie auf Reisen, besonders in Südtunis, oft brackiges Wasser getrunken, es soll dies aber stets abgekocht gewesen sein. Jedoch läßt sich leicht denken, daß es hierbei doch irgendwie zur Infektion kam.

Auffallen mag nun zuerst die große Verschiedenheit der Infektionsorte: Indien (WENYON), Krim (ALEXEIEFF), Samoa (v. PROWAZEK), Indochina (NATTAN-LARRIER), Frankreich (BRUMPT) und jetzt Tunis, jedoch bei den stark kosmopolitischen Eigenschaften der Flagellaten (DOFLEIN 25) nimmt weniger dies wunder als vielmehr die Tatsache, daß trotz seiner großen Verbreitung der Parasit bis jetzt erst fünfmal beschrieben wurde. Sicherlich sind die Infektionsmöglichkeiten vielfach gegeben, und Individuen mit Anacidität sind doch auch nicht so selten, denn vermutlich muß man Anacidität als *conditio sine qua non* für die Infektion voraussetzen (COHNHEIM 16, 17 u. a.).

Ist denn nun eigentlich *Difämus* bis jetzt noch gar nicht beschrieben worden? Wenn wir alle uns zugänglichen Berichte über Flagellatenbefunde im Menschen prüfen, dann kommen wir zu dem Ergebnis, daß wahrscheinlich *Difämus* schon mehrfach unter dem Namen *Trichomonas* beschrieben wurde.

Einen gewissen Zeitabschnitt in dieser ganzen Flagellatenliteratur bildet die schon oben mehrfach erwähnte, 1897 erschienene Arbeit JANOWSKY'S (40), denn durch sie kam bis zu einem gewissen Grade Klarheit in die oft so wirren Berichte, und vor allem konnten hierauf gestützt die späteren Befunde gleich geordnet untergebracht werden. Daß nun JANOWSKY einigen alten Berichten Gewalt angetan hat, um sie in seine drei Parasitenarten unterzubringen, das mag man entschuldigen, dafür hat er eben Ordnung geschafft. Uns aber interessieren jetzt gerade zum Teil die Fälle, die ihm nicht passen wollten.

Wir haben schon oben gesagt, daß wir BRUMPT'S Versuch, die DAVAIN'SCHE *Cercomonas* und WENYON'S *Tetramitus* zu identifizieren, nicht zustimmen können, da gar kein Anlaß dazu vorliegt.

In der gesamten uns zugänglichen Literatur finden wir von folgenden Autoren Trichomonadenfälle beschrieben:

1879 GRASSI (32)	1903 COHNHEIM (16)
1881 CUNNINGHAM (19)	1904 ZABEL (99)
1882 GRASSI (32)	1904 v. PROWAZEK (71)
1891 MAY (56)	1905 ROSENFELD (76)
1893 ROOS (75)	1905 NICHOLS (63)
1893 EPSTEIN (29)	1905 BILAND (6)
1894 KRUSE u. PASQUALE (47)	1906 KRAUSE (46)
1895 PICCARDI (68)	1907 WASSERTHAL (93)
1895 SCHÜRMEYER (86)	1907 WENYON (94)
1895 SCHMIDT (81)	1908 BOHNE u. v. PROWAZEK (8)
1897 HENSEN (38)	1908 BENSEN (4)
1898 SKALLER (87)	1908 UCKE (90)
1898 STRUBE (89)	1910 BRUMPT (12)
1899 QUINCKE (73)	1911 v. PROWAZEK (72)
1899 SALOMON (79)	1912 BRUMPT (13)
1901 ZABEL (98)	1913 ESKOMEL (30)
1901 LAVERAN u. MESNIL (49)	1913 MELLO-LEITAO (57)
1902 v. PROWAZEK (69)	1913 SMITHIES (88)

Von diesen 29 Autoren können wir bei der Frage, ob nicht einige *Difämus* beschrieben haben, von vornherein eine große Anzahl ausschalten:

1. diejenigen, welche eine undulierende Membran am Körper, nicht im Cytostom beschreiben, oder „Wimpernreihe“ — wie die alten Autoren meinten,

2. diejenigen, denen eine genaue *Trichomonas*-Beschreibung vorlag, und die dann ihren Befund für typische *Trichomonas* hielten.

Unter 1 scheiden aus:

GRASSI, CUNNINGHAM, MAY, KRUSE u. PASQUALE, SCHMIDT, HENSEN, SKALLER, STRUBE, ZABEL, LAVERAN u. MESNIL, v. PROWAZEK, KRAUSE, WENYON, BENSEN, BRUMPT.

Unter 2 scheiden aus:

QUINCKE, SALOMON, COHNHEIM, ROSENFELD, NICHOLS, BILAND, WASSERTHAL, UCKE, ESKOMEL, SMITHIES, MELLO-LEITAO.

So bleiben noch die Fälle von

ROOS, EPSTEIN, PICCARDI, SCHÜRMEYER.

Auffälligerweise sind das gerade solche Fälle, deren Unterbringung JANOWSKY Schwierigkeiten machte. Leider liegen uns die Arbeiten von EPSTEIN und die von PICCARDI nicht im Original vor.

Roos (75) fand bei einer Anzahl Infusorienfälle einen mit einem Parasiten, über den er u. a. folgendes angibt: „In der Nähe des vorderen Endes befindet sich eine Mundöffnung, die sich oft bis zur Körpermitte erstreckt. Vorn an demselben sitzen drei nicht ganz körperlange Geißeln. Sonst ist die Oberfläche glatt, und nur das hintere Ende trägt einen kurzen, unbeweglichen, stachelartigen Fortsatz.“ In anderen Fällen hat Roos, dem 1893 schon genaue Beschreibungen der undulierenden Membran zur Verfügung standen, regelrechte Trichomonaden mit der undulierenden Membran beschrieben und abgebildet, so daß von einem Übersehen dieser undulierenden Membran nicht die Rede sein kann. JANOWSKY macht darauf aufmerksam, daß nur an guten Präparaten die undulierende Membran sichtbar ist und daß dies wohl die Ursache sei, weshalb Roos sie nicht gesehen habe. Roos hat aber den Patienten 3 Monate lang behandelt, viele Präparate gemacht und oft untersucht, außerdem hat Roos in den anderen Fällen gute Präparate hergestellt und die undulierende Membran gesehen. Ohne die damals auffällige Bemerkung über das Cytostom zu beachten — über ein so großes Cytostom war es die erste in der Literatur —, bemerkt JANOWSKY dann: „Wenn der Verlust eines jeden Härchens bei den Trichomonaden die Feststellung einer jedesmaligen neuen Form nach sich zöge, so müßten in jedem monadenhaltigen Stuhl sehr viele Formen derselben vertreten sein.“ Mit einer derartigen Bemerkung ist die Sache nicht erledigt, sondern wir greifen nun auf Roos zurück. Wir glauben auf Grund der Zeichnungen und der Schilderung von Roos annehmen zu können, daß Roos als erster *Difämus* beschrieben hat (s. Fig. 14, 15).

Im Jahre 1893 veröffentlichte EPSTEIN (29) 26 Fälle aus dem Prager Krankenhaus, wo er den fast experimentellen Beweis erbringt, daß „*Trichomonas*“ Diarrhöen erzeugen kann. JANOWSKY berichtet leider nur von der pathogenen Bedeutung des Parasiten in diesen Fällen und spricht kein Wort über den Flagellaten selbst, dafür gibt er eine Abbildung EPSTEIN's wieder (s. Fig. 16). Auf den ersten Blick fällt an dieser das große weite Cytostom auf, ferner fehlt jede undulierende Membran; das Bild zeigt zwei Geißeln und einen langen spitzen Schwanz.

Von den Befunden PICCARDI's (68) sind uns leider auch nur die Zeichnungen zugänglich, die ebenfalls JANOWSKY wiedergibt (siehe Fig. 22, 23). Es handelt sich hierin anscheinend wirklich um *Trichomonas*: das Fehlen des Cytostoms und das Vorkommen amöboider Formen bestärken diese Auffassung, denn in keinem echten *Difämus*-Fall

wurden amöboide Stadien gesehen, wohl aber fanden diese die Mehrzahl der Trichomonadenbeobachter. Wenn nun auch die Möglichkeit vorliegt, daß es *Difämus* war, so glauben wir es jedoch nicht.

Im gleichen Jahre (1895) berichtet SCHÜRMEYER (86) von einem Diarrhöefall bei einem Kind; er hat verschiedentlich untersucht und, wie er ausdrücklich betont, „nie eine undulierende Membran gesehen ebenso keine Cilien“. Stets seien nur zwei Geißeln vorhanden gewesen. Bezeichnend ist, wie JANOWSKY auch diesen Befund unterzubringen weiß: „Der Autor hat nur zwei Geißeln, jedoch keine undulierende Membran gesehen, was obige Anschauung (Beschreibung von *Trichomonas* mit drei Geißeln und einer undulierenden Membran!) durchaus nicht widerspricht, da wir bereits erfahren haben, wie leicht die Geißeln abfallen oder nicht mehr erkennbar werden, und wie oft die undulierende Membran übersehen wird.“ Man sollte doch glauben, daß SCHÜRMEYER, wenn er Kulturen angelegt und die Flagellaten gezüchtet hat, daß er sie dann auch oft und genau untersucht hat. Man hat ja doch wohl nicht ohne weiteres das Recht zu streichen, was einem nicht paßt, und hinzuzufügen, was einem zu fehlen scheint. Von einem Cytostom erwähnt SCHÜRMEYER nichts, aber auf seinen Figuren zeichnet er etwas Derartiges, wenn sie auch, weil zu stark schematisiert, nicht ohne weiteres einen Schluß zulassen (s. Fig. 17). Es scheint also hier wiederum sehr zweifelhaft, wozu wir diesen Flagellaten zu rechnen haben. Daß es ein *Difämus* sei, will uns nicht so fraglich scheinen, wie seine Zugehörigkeit zu den Trichomonaden, jedoch läßt sich mit Bestimmtheit nichts sagen.

Fassen wir nun zusammen, was unsere Rundschau in der Literatur ergibt, so scheint es uns sicher, soweit man hier von „sicher“ reden kann, daß der Flagellat im ersten Roos'schen Fall neben der *Lambliä intestinalis* mit dem von uns gefundenen Flagellaten identisch ist, also auch zur Gattung *Difämus* gehört; mit einiger Wahrscheinlichkeit glauben wir auch das gleiche von dem EPSTEIN'schen Parasiten behaupten zu können, während wir betreffs PICCARDI's und SCHÜRMEYER's Befunden nur von einer Möglichkeit reden können, und zwar bei dem ersten von einer sehr geringen Möglichkeit, bei dem zweiten dagegen von einer etwas größeren.

Nun ist es auffällig, daß dies gerade drei von den verhältnismäßig seltenen Fällen sind, in denen wir die pathogene Rolle des Parasiten ohne Einschränkung zugestehen müssen. Bei Roos ist von seinen sechs Fällen Infusoriendiarrhöe dies der einzige, wo sich die Pathogenität des Protozoen mit Bestimmtheit behaupten läßt.

Der EPSTEIN'sche Fall ist der, bei dem der Autor durch Trinkenlassen von flagellatenhaltigem Wasser bei vorher gesunden Personen experimentell Durchfall hervorrief. SCHÜRMEYER scheint die pathogene Rolle seines Flagellaten nicht zweifelhaft gewesen zu sein, so daß er diese Frage gar nicht näher untersucht.

### Ergebnis.

1. Wir finden einen Flagellaten der neuen Gattung *Difämus*, nämlich *Tetramitus* ohne undulierende Membran im Cytostom.
2. Die Pathogenität kann mit Sicherheit behauptet werden.
3. In der Literatur ist dieser Flagellat fälschlicherweise schon mehrfach unter dem Namen *Trichomonas* beschrieben worden.

### Zusammenstellung der Maße.

#### Vegetative Formen.

Nr.	Körper		Schwanz $\mu$	Cytostom		Kern $\mu$	Geißeln			Bemerkungen
	lang $\mu$	breit $\mu$		breit $\mu$	tief $\mu$		1 $\mu$	2 $\mu$	3 $\mu$	
1	7,5	5,75		1,5	3,5	2,75	5,0			
2	8,0	6,25	3,5		4,25	2,5				
3	8,0	5,75	2,25		3,5	2,0				
4	8,0	6,25		2,0	4,75	3,0				
5	9,25	6,25		1,5	4,75	2,25				
6	7,0	4,75	2,5	1,5	4,75	2,75				
7	7,5	4,5	3,0	1,5	4,25	2,5				
8	7,75	4,75				2,75	7,75	7,75	9,25	
9	7,75	5,5				3,0	7,75	6,25		
10	8,5	5,5				3,0	9,5	10,25		
11	6,25	4,75				2,5	6,5	6,0		
12	5,5	4,25				1,75	9,5	9,0		
13	7,75	5,25				3,0	7,75	7,75		
14	7,75	5,75	3,75			3,0	8,5	7,75	5,75	
15	6,0	4,75	4,0			2,25	7,75	7,75		
16	8,0	5,0	4,75			3,0	6,25	6,25		
17	6,75	6,0		1,5	4,0	3,0	5,75	6,0		
18	6,75	5,5			3,25	2,25	7,75	7,75	4,75	
19	7,0	5,0	6,5		2,75	2,25	7,75	7,75	5,75	
20	7,5	4,75	4,75	1,25	3,25	2,25	7,75	5,5		
21	6,5	5,0	3,5	1,5	3,75	2,25	6,5	6,5		
22	7,75	5,0	3,25	1,0	5,25	2,0	8,0	8,5	4,0	Fig. 1.
23	7,75	5,0	6,0	1,5	2,25	2,25	15,0	6,0	6,0	Fig. 2.
24	9,5	6,5								Fig. 7. Isogame Kopulation.
25	7,75	5,5								Fig. 6. Teilung.

## Cysten.

Nr.	lang	breit	Bemerkungen
	$\mu$	$\mu$	
1	8,5	5,5	Fig. 8.
2	7,0	5,5	
3	5,5	5,5	
4	6,0	5,75	
5	11,0	4,75	Doppelfigur.
6	15,0	6,25	Doppelfigur. Fig. 9.
7	15,75	3,0	Doppelfigur.
		7,0	
		3,0	

## Einige Bemerkungen zu obiger Übersicht.

Tier 1—7 sind aus mit Eisenhämatoxylin gefärbten Präparaten genommen, daher fehlen die Maße für die Geißeln; in der Fig. 5 haben wir die Geißeln der Vollständigkeit halber ergänzt.

Tier 8—23 stammen aus den Präparaten, die mit Giemsa gefärbt wurden. Bei 8—16 war das Cytostom teils nicht zu sehen, teils schlecht zu messen.

Die verschiedenen Breitenangaben bei den Cysten 6 und 7 beziehen sich darauf, daß die 8-Form der Cysten an breitester und dünnster Stelle gemessen wurde.

## Untersuchungsmaterial.

Zur Untersuchung der lebenden Tiere wurden aus den frisch abgesetzten Stühlen, und zwar besonders aus den Schleimflöckchen, Präparate mit heißer physiologischer Kochsalzlösung hergestellt. Zur Färbung wurden Präparate benutzt, die ebenfalls aus ganz frischem Stuhl stammten und mit Sublimatalkohol (nach SCHAUDINN) fixiert waren; gefärbt wurde zum Teil mit Eisenhämatoxylin nach HEIDENHAIN, zum Teil mit Azureosin nach GIEMSA. Bei einer Anzahl der E.-H.-Präparate kam Bordeauxrot als Plasmafarbe zur Anwendung.



### Literaturverzeichnis.

- 1) ALEXEIEFF, A.: Les flagellés parasites de l'intestin de batraciens indigènes. Compt. rend. Soc de Biol. T. 61 1909.
- 2) —: Sur les flagellés intestinaux des poissons marins. Arch. d. Zool. expér. et gén. T. 6 1910.
- 3) —: Sur la nature des formations dites „Kystes de Trichomonas“. Compt. rend. Soc. de Biol. T. 63 1911 p. 296.
- 4) BENSEN, W.: Die Darmprotozoen des Menschen. Arch. f. Schiffs- u. Tropenhyg. Bd. 12 1908 p. 661.
- 5) —: Untersuchungen über Trichomonas intestinalis und vaginalis des Menschen. Arch. f. Protistenk. Bd. 18 1910 p. 115.
- 6) BILAND: Beitrag zur Pathogenität der Flagellaten. Deutsch. Arch. f. klin. Med. Bd. 86 1905.
- 7) BLOCHMANN: Bemerkungen über einige Flagellaten. Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. 40 1884 p. 43.
- 8) BOHNE u. v. PROWAZEK: Zur Frage der Flagellatendysenterie. Arch. f. Protistenk. Bd. 12.
- 9) BRAUN, M.: „Die tierischen Parasiten des Menschen.“ 4. Aufl. Würzburg 1908.
- 10) —: Bericht über tierische Parasiten. Centralbl. f. Bakt. Bd. 13 1893.
- 11) BROWN, CARNEGIE: Amoebic or tropical Dysentery. London 1910.
- 12) BRUMPT, E.: Précis de parasitologie. Paris 1910.
- 13) —: Cólite à Tetramitus Mesnili (WENYON 1910) et cólite à Trichomonas intestinalis (LEUCKART 1879). Blastocystis hominis n. sp. et formes voisines. Bull. de la Soc. de pathol. exot. T. 5 1912.
- 14) CAHEN: Über Protozoen im kindlichen Stuhl. Deutsch. klin. Wochenschr. 1891 p. 853.
- 15) CASTELLANI u. CHALMERS: Manual of tropical medicine. London 1910.
- 16) COHNHEIM, PAUL: Über Infusorien im Magen und Darmkanal des Menschen und ihre klinische Bedeutung. Deutsch. med. Wochenschr. 1903 Nr. 12.
- 17) —: Infusorien bei gut- und bösartigen Magenleiden nebst Bemerkungen über sogenannte Infusorienenteritis. Deutsche med. Wochenschr. 1909.
- 18) CUNNINGHAM: Auszug aus den Untersuchungen von Dr. DOUGLAS CUNNINGHAM in Ostindien über die Verbreitungsart der Cholera. Zeitschr. f. Biol. Bd. 8 1872.
- 19) —: On the development of certain microscopic organisms occuring in the intestinal canal. Quart. Journ. of microscop. scienc. Vol. XXI 1881.
- 20) DAVAINE: Sur les animalcules infusories trouvés dans les selles de malades atteints du choléra et d'autre affections. Compt. rend. (des séanc. et memoire de la) Société de biologie 1854.
- 21) —: Traité des entozoaires. Paris 1860.
- 22) DAVISON, Q.: in ALLBUT u. ROLLESTON: A System of medicine. Vol. II part II p 545. 1909.
- 23) DOBELL, CL. C.: Researches on the intestinal protozoa of frogs and toads. Quart. Journ. of microscop. scienc. Vol. 53 1909.
- 24) DOCK: Trichomonas as a parasite of man. The amer. Journ. of the medical scienc. Vol. 111 1896.

- 25) DOPLEIN, F.: Lehrbuch der Protozoenkunde. II. Aufl. Januar 1909.
- 26) DOPLEIN u. KÖHLER: „Überblick über den Namen des Protozoen.“ Im Handbuch der pathogenen Mikroorganismen von KOLLE-WASSERMANN, 16. Lief. Bd. 7.
- 27) EKECRANTZ, W.: Bidrag till kannedomen om de i människans tarmkanal förekommande infusorier. Nordiskt medicinskt Arkiv Bd. 1 No. 20. Referat: Jahresbericht über d. Leistungen u. Fortschritte in d. gesamten Medizin. VIRCHOW-HIRSCH, Bd. 1 1870.
- 28) ELLERMANN, V.: Über kleinste Mikroorganismen im menschlichen Speichel. Centralbl. f. Bakt. 1. Abt. Bd. 44 1907. A. Originale p. 160.
- 29) EPSTEIN: „Beobachtungen über Monocercomonas hominis GRASSI und Amoeba coli LOESCH bei Kinderdiarrhöen.“ Prag. med. Wochenschr. 1893 No. 38 39 40. Zitiert bei JANOWSKY, s. Nr. 40.
- 30) ESKOMEL, Sur la dysenterie à Trichomonas à Aréquipa (Pérou). Bull. d. l. Soc. de pathol. exot. T. VI 1903 No. 2 p. 120.
- 31) FERRY et SICRE: Concidérations sur en cas de diarrhée due au Cercomonas intestinalis. Arch. méd. pharm. milit. T. III 1908. Referat: Jahresbericht von VIRCHOW-HIRSCH.
- 32) GRASSI: Morphologia e sistematica di alcuni protozoi parassiti. Atti della R. Accad. dei Lincei Redic. Roma 1888 Vol. 4 p. 83.
- 33) GRASSI u. SCHEWIAKOFF: Beitrag zur Kenntnis des megastomum entericum. Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. 46 1888.
- 34) GUASTALLA: „Flagellaten im menschlichen Darm.“ Wien. klin. Wochenschr. 1909 Bd. 22 No. 45.
- 35) GÜRBER, A.: Über Uzara, ein neues organotrop wirkendes Antidiarrhoikum. Münch. med. Wochenschr. 1911 No. 40.
- 36) HARTMANN, M.: „Die Dysenterieamöben.“ Im Handb. d. pathog. Prot. 1. Lief. 1911 p. 41.
- 37) HENNING: Hygiea 1908. Referat: Deutsch. med. Wochenschr. 1908.
- 38) HENSEN, H.: Über den Befund von Infusorien im Mageninhalt bei Ca. ventriculi. Deutsch. Arch. f. klin. Med. Bd. 59 1897.
- 39) v. JAKSCH: Über das Vorkommen von tierischen Parasiten in den Fäces der Kinder. Wien. klin. Wochenschr. 1888 Jahrg. 1.
- 40) JANOWSKY, W.: Über Flagellaten in den menschlichen Fäces und über ihre Bedeutung für die Pathologie des Darmes. Zeitschr. f. klin. Med. 1897 Bd. 31.
- 41) JOLLOS, V.: Im Handb. f. pathog. Mikroorg. Lief. 49 1913.
- 42) KANNENBERG: Über Infusorien in den Sputis bei Lungengangrän. Zeitschr. f. klin. Med. Bd. 1 1880.
- 43) —: Über Infusorien im Sputum. VIRCHOW-Archiv Bd. 75 1879.
- 44) KENT, W. SAVILLE: Manual of the infusoria. London 1880—1881 Vol. 1 p. 308. Zitiert bei MIURA s. No. 59.
- 45) KISSKALT, K. u. HARTMANN, M.: Praktikum der Bakteriologie und Protozoologie 1907.
- 46) KRAUSE, P.: Über Infusorien im Typhusstuhl nebst Beschreibung einer bisher noch nicht beobachteten Art. Deutsch. Arch. f. klin. Med. Bd. 86 1906 p. 442.
- 47) KRUSE u. PASQUALE: Untersuchungen über Dysenterie und Leberabszeß. Zeitschr. f. Hyg. Bd. 16 p. 1 1894.

- 48) LAMBL: *Cercomonas et echinococcus in hepate hominis*. Mediz. Wjestnick 1875.  
Zitiert bei JANOWSKY s. No. 40.
- 49) LAVERAN, A. u. MESNIL, F.: *Sur la morphologie et la systématique des flagellés à membrane ondulante*. Compt. rend. des séanc. de l'acad. des scienc. T. 133 1901.
- 50) LEUCKART: *Die Parasiten des Menschen*. II. Aufl. Leipz. Heid. 1879/86.
- 51) v. LEYDEN: *Deutsch. med. Wochenschr.* 1902.
- 52) MARCHAND: *Ein Fall von Infusorien im Typhusstuhl*. VIRCHOW-Arch. f. pathol. Anat. Bd. 64 p. 293 1875.
- 53) —: *Über das Vorkommen von Trichomonas im Harn eines Mannes nebst Bemerkungen über Trichomonas vaginalis*. Centralbl. f. Bakt. Bd. 15 1894.
- 54) MARTIN u. ROBERTSON: *Further observations on the caecal parasites of fowls*. Quart. Journ. of microscop. scienc. 1912.
- 55) MASSIUTIN: *Über Amöben als Parasiten des Dickdarms*. Wratsch 1889. Referat: Centralbl. f. Bakt. 1889 Bd. 6 p. 451.
- 56) MAY, R.: *Über Cercomonas hominis*. Deutsch. Arch. f. klin. Med. Bd. 49 1892.
- 57) MELLO-LEITAO: *„Flagellate Dysentery in Children.“* Brit. Journ. of Childrens Dis. Febr. 1913 Vol. 10 No. 110 p. 60—66. Ref. in: Tropical Diseases Bulletin Vol. 1 p. 718.
- 58) MILLOUS: *Remarques sur des Cas de Dysenterie à Thanh-hoa en 1912*. Bull. Soc. Méd.-Chir. de l'Indochina Jan. 1913 Vol. 4 No. 1 p. 7—13. Referat in: Trop. Dis. Bullet. Vol. 1 p. 720.
- 59) MIURA, K.: *Trichomonas vaginalis im frisch gelassenen Urin eines Mannes*. Centralbl. f. Bakt. Bd. 16 1894.
- 60) MORITZ u. HÖLZL: *Über Häufigkeit und Bedeutung des Vorkommens von Megostoma entericum im Darmkanal des Menschen*. Münch. med. Wochenschr. Jahrg. 39 1892 Nr. 47.
- 61) MÜLLER, ERIK: *Elf fynd of Cercomonas intestinalis i jejunum frau Människa*. Bericht im Centralbl. f. Bakt. Bd. 8 1890.
- 62) NATAN-LARRIER: *Infection humaine due à Tetramitus mesnili (WENYON 1910)*. Bull. de l. Soc. d. pathol. exot. T. 5 1912 No. 7.
- 63) NICHOLS: *Protozoa in the stomach and their diagnostic significance*. The amer. journ. of the med. scienc. 1905 Bd. 130.
- 64) NOTHNAGEL, H.: *Zur Klinik der Darmkrankheiten*. Zeitschr. f. klin. Med. Bd. 1 1880.  
—: *Beiträge zur Pathologie und Physiologie des Darmes*. 1884.
- 65) PEIGER: in NOTHNAGEL's Handb. f. spez. Pathol. u. Ther. Bd. 6.
- 66) PERRONCITO: *Über die Verbreitung von Cercomonas hominis*. Bericht im Centralbl. f. Bakt. Jahrg. 2 Bd. 4 1888.
- 67) PFEIFFER, L.: *Unsere heutigen Kenntnisse von den Protozoen*. Centralbl. f. Bakt. Bd. 8 1890.
- 68) PICCARDI: *Alcuni protozoi delle feci dell' uomo*. Giornale della Reale Accad. di medicina di Torino.
- 69) v. PROWAZEK: *Notiz über Trichomonas hominis*. Arch. f. Protistenk. 1902 Bd. 1.
- 70) —: *Flagellatenstudien*. Arch. f. Protistenk. 1903 Bd. 2.
- 71) —: *Untersuchungen über einige parasitische Flagellaten*. Arbeit aus d. Kais. Gesundheitsamt Bd. 21 1904.
- 72) — *Zur Kenntnis der Flagellaten des Darmtrakts*. Arch. f. Protistenk. Bd. 20 1911.

- 73) QUINKE: Über Protozoenenteritis. Berl. klin. Wochenschr. Jahrg. 36 Nr. 46 u. 47 1899.
- 74) RODENWALDT: Flagellaten. Im Handb. d. pathog. Prot. Lief. 1 1911 p. 78.
- 75) ROOS, E.: Über Infusoriendiarrhöe. Deutsch. Arch. f. klin. Med. 1893 Bd. 51.
- 76) ROSENFELD: Über die Bedeutung der Flagellaten im Magen und Darm des Menschen. Deutsch. med. Wochenschr. 1904 No. 47.
- 77) ROSENHEIM: Colitis gravis. Deutsch. med. Wochenschr. 1908 Nr. 7 u. 8.
- 78) RUGE: Studium der Malariakrankheiten. Jena 1906.
- 79) SALOMON: Ein Fall von Infusoriendiarrhöe. Berl. klin. Wochenschr. Jahrg. 36 1899 Nr. 46.
- 80) SCHAUDINN, FR.: Untersuchungen über die Fortpflanzung einiger Rhizopoden. Arbeit aus d. Kais. Gesundheitsamt Bd. 19 1903 p. 547.
- 81) SCHMIDT, A.: Über parasitische Protozoen (*Trichomonas pulmonalis*) im Auswurf. Münch. med. Wochenschr. 1895 Jahrg. 42 Nr. 51.
- 82) SCHMIDT: Infusorien im Mageninhalt bei *Ulcus ventriculi*. Wien. klin. Wochenschr. 1904.
- 83) SCHMIDT, ADOLF: Klinik der Darmkrankheiten. I. Teil. Wiesbaden 1912.
- 84) SCHUBERG, A.: Die parasitischen Amöben des Darmes. Centralbl. f. Bakt. Bd. 13 1893.
- 85) —: Centralbl. f. Bakt. Bd. 14 1893 p. 85.
- 86) SCHÜRMYER: Vom Vorkommen von Flagellaten im Darmkanal des Menschen. Centralbl. f. Bakt. 1895 Bd. 18 1. Abt.
- 87) SKALLER: Kasuistischer Beitrag zur Kenntnis des Vorkommens von *Trichomonas vaginalis* im Darmkanal des Menschen. Berl. klin. Wochenschr. Jahrg. 35 1898 No. 25.
- 88) SMITHIES, FRANZ: The occurrence of *Trichomonas hominis* in Gastric contents with a Report of two Cases. Amer. Journ. of Med. Scienc. 1912 Juli Vol. 144. Referat in: Trop. Dis. Bull. Vol. 1 p. 469 1912.
- 89) STRUBE: *Trichomonas hominis* im Mageninhalt bei *Carcinoma cardiaae*. Berl. klin. Wochenschr. Jahrg. 35 1898 Nr. 32.
- 90) UCKE: *Trichomonaden* und *Megastomen* im Menschendarm. Centralbl. f. Bakt. Bd. 45 1908 1. Abt. A. Original p. 231.
- 91) ULEHLA, WLAD.: Ultramikroskopische Studien über Geißelbewegung. Biolog. Centralbl. 1911 Bd. 31.
- 92) ULLMANN: Deutsch. med. Wochenschr. 1902 Ver.-Beil. 24.
- 93) WASSERTHAL: Über die Bedeutung von Flagellaten im Stuhl bei *Achylia gastrica*. Arch. f. Verdauungskrankh. Bd. 13 1907 p. 259.
- 94) WENYON, C. M.: Observations on the Protozoa in the intestine of mice. Arch. f. Protistenk. Suppl. I 1907 p. 184.
- 95) —: A new flagellat (*Macrostoma mesnili*) from the human intestine with some remarks on the supposed cysts of *Trichomonas*. Parasitologie, a supplement to the Journ. of hyg. 1910 Vol. 3 No. 2 p. 210.
- 96) WERNER: *Entamoeba coli*. Im Handb. d. pathog. Prot. 1. Lief. 1911 p. 67.
- 97) —: Über *Uzara* bei Amöbendysenterie. Arch. f. Schiffs- u. Tropenhyg. Bd. 16 Heft 6 1912.
- 98) ZABEL, E.: *Megastoma intestinale* und andere Parasiten in den Zotten eines Magenkrebses. Arch. f. Verdauungskrankh. 1901 Bd. 7 p. 509.
- 99) —: Flagellaten im Magen. Wien. klin. Wochenschr. Jahrg. 17 1904.

### Tafelerklärung.

#### Tafel 1.

- Fig. 1, 2 u. 5. Vegetative Formen von *Difämus tunensis* n. sp. GÄBEL.  
 Fig. 3 u. 4. Verschiedene Kerntypen.  
 Fig. 6 u. 6a. Einfache Teilungsform (Längsteilung?).  
 Fig. 7. Isogame Kopulationsform.  
 Fig. 8 u. 9. Cysten mit Reservestoffkörper, Fig. 9 im Begriff sich noch zu teilen.  
 Fig. 10—13. Umriss rasch in Bewegung befindlicher Tiere.

#### Tafel 2.

- Fig. 14 u. 15. „*Trichomonas intestinalis*“ nach ROOS (1. Fall).  
 Fig. 16. „*Monocercomonas hominis*“ nach EPSTEIN (nach der Wiedergabe bei JANOWSKY).  
 Fig. 17. „*Trichomonas intestinalis*“ nach SCHÜRMYER.  
 Fig. 18. *Fanapepea intestinalis* nach v. PROWAZEK.  
 Fig. 19. *Tetramitus (Macrostoma) mesnili* nach WENYON.  
 Fig. 20. *Tetramitus mesnili* nach NATAN-LARRIER.  
 Fig. 21. *Tetramitus* nach BRUMPT.  
 Fig. 22. *Trichomonas intestinalis* nach PICCARDI (nach der Wiedergabe bei JANOWSKY).  
 Fig. 23. Amöboide Formen von *Trichomonas intestinalis* nach PICCARDI (nach der Wiedergabe bei JANOWSKY).

Die eigenen Fig. 1—13 sind im Maßstab 1 : 3000 angefertigt, nur Skizze 6a aus rein zeichnerischen Gründen im Maßstab 1 : 1500. Die Zeichnungen anderer Autoren sind in der Originalgröße wiedergegeben, d. h.

Fig. 14 u. 15	ungefähr	1 : 1000.
„ 16	„	1 : 3500.
„ 17	„	1 : 2000.
„ 18	„	1 : 1800.
„ 19	„	1 : 2700.
„ 20	„	1 : 1000.
„ 21	„	1 : 1500.
„ 22 u. 23	„	1 : 1200.

## **Kurze Angaben über eine nichtpathogene Amöbe aus dem Darm von *Macacus rhesus*.**

(Vorläufige Mitteilung.)

Von

**Kurt Behrend.**

(Hierzu 8 Textfiguren.)

---

Über nichtpathogene Amöben aus dem Darm von Affen ist bis jetzt nur wenig bekannt. CHATTON fand bei einem *Macacus sinicus* zahlreiche, wenig bewegliche Darmamöben, die nicht pathogen waren. MUSGRAVE und CLEGG fanden unter etwa 350 Affen nur drei mit Amöben infiziert, und zwar auch Makaken, *M. cynomolgus* und *M. philippinensis*. WALKER erwähnt 1908 in einer zusammenfassenden Arbeit kein Vorkommen von Amöben bei Affen. LISTON und MARTIN haben aus Affenfäces Amöben kultiviert, doch handelt es sich hier wahrscheinlich um nicht parasitäre Limaxamöben.

Die von mir gefundenen Amöben stammen von einem Rhesusaffen, *Macacus rhesus* des Instituts für Schiffs- und Tropenkrankheiten zu Hamburg.

Mit Sicherheit ließen sich nur Cysten feststellen, während es bei einigen wenigen Formen zweifelhaft war, ob sie frei oder encystiert waren. In frischen Präparaten konnten nur Cysten gesehen werden. Leider konnten dem Affen keine Abtreibungsmittel gegeben werden, da er noch anderweitig infiziert war.

Die Größe der Cysten schwankt zwischen etwa 8 bis 25  $\mu$ . Ihre Form ist entweder kreisrund oder oval. Die Dicke der Cysten-

membran ist sehr verschieden. Bei einigen Formen war sie deutlich doppelt konturiert, bei anderen kaum angedeutet.

Fixiert wurde vorwiegend mit SCHAUDINN'S Sublimatalkohol, seltener mit absolutem Alkohol. Die Färbung erfolgte mit Eisenhämatoxylin nach HEIDENHAIN, mit Hämatoxylin nach BÖHMER, mit BORREL'schem Gemisch, nach der GIEMSA-Acetonmethode, nach der Methode von BEST zum Nachweis von Glykogen, Nachfärbung mit BÖHMER'schem Hämatoxylin, mit Thionin und mit polychromem Methyleneblau.

Die besten Resultate ergaben HEIDENHAIN'S Eisenhämatoxylin, BÖHMER'S Hämatoxylin und die feuchte GIEMSA-Färbung.



Fig. 1.



Fig. 2.



Fig. 3.



Fig. 4.



Fig. 5.



Fig. 6.



Fig. 7.



Fig. 8.

Fig. 1 u. 2. Einkernige Cysten. Chromatinmassen zerstreut.

Fig. 3 u. 4. Zweikernige Cysten.

Fig. 5—7. Vierkernige Cysten. Chromatinmassen konzentriert, bei Fig. 7 der Länge nach geteilt.

Fig. 8. Achtkernige Cyste.

Fig. 1, 4 BÖHMER-Hämatoxylin. Fig. 2, 5, 6, 7 GIEMSA-Aceton-Methode.

Fig. 3 HEIDENHAIN-Hämatoxylin. Fig. 8 BEST-Glykogenfärbung, BÖHMER-Hämatoxylin.

Das Plasma ist entweder in verschiedenem Grade alveolär oder gleichmäßig granuliert. In den meisten Cysten finden sich Vacuolen, und zwar oft neben mehreren kleineren eine große, die manchmal die Hälfte oder gar noch mehr der Zelle einnimmt. Sie entsteht wahrscheinlich durch Zusammenfließen mehrerer kleinerer. Meist ist, wenn die Vacuolen deutlich sind, der Kern undeutlich, und wenn die Vacuolen verschwinden, wird der Kern deutlicher.

Am Kern ist oft ein Caryosom zu unterscheiden. Außerdem färbt sich noch die Peripherie des Kernes dunkel und manchmal ist auch ein Lininnetz zu sehen. Bei den meisten Cysten ist nur ein Kern vorhanden, bei manchen sind zwei, seltener vier vorhanden,

zweimal wurden acht Kerne gesehen. Die Form der Kerne ist in den einkernigen Cysten rund oder oval, in den mehrkernigen stets rund.

Während fast aller Kernstadien sind im Zellplasma Chromidialmassen vorhanden, die beinahe stets stabförmig sind und meist in der Zelle unregelmäßig angeordnet liegen. Bei den einkernigen Cysten sind sie stets stabförmig und liegen ungeordnet in der Zelle. In manchen Zellen sind die Chromatinmassen fast ganz konzentriert, in anderen zerstreut. Ihre Zahl kann von 2 bis über 20 schwanken und dementsprechend ist auch ihre Größe verschieden. In den Cysten mit den dünnsten Chromatinstäbchen scheinen stets zwei dicht nebeneinander zu liegen. In den zweikernigen Cysten sind die Chromatinmassen mehr in größere Stücke konzentriert. In den vierkernigen liegt das Chromatin oft zu einem Stab geformt in der Mitte der Zelle zwischen je zwei Kernen. In unvollkommenerem Maße kann dies auch schon bei den zweikernigen Cysten der Fall sein. Einmal wurde eine vierkernige Cyste gesehen, in welcher der in der Mitte gelegene Chromatinstab der Länge nach gespalten war. Vielleicht findet dann noch eine weitere Teilung des Chromatins statt, um auf jeden Kern eine möglichst gleich große Chromidialmenge zu bringen. In den achtkernigen Cysten wurde kein stäbchenförmiges Chromatin gesehen.

Zweimal wurden Formen gesehen, wo scheinbar eine junge Amöbe abgeschnürt wurde resp. war, doch ist dies wohl nur auf Verletzung der Cyste durch Deckglasdruck zurückzuführen, zumal die Chromatinbrocken noch unregelmäßig in den Cysten verteilt lagen und nur ein Kern zu sehen war.

Der Glykogenachweis nach der Best'schen Methode zeigte das Glykogen teils konzentriert, teils diffus in der ganzen Zelle verbreitet. Bei einkernigen Cysten war oft nur der Kern (?) rot gefärbt, oft daneben noch ein oder mehrere kleinere Körnchen, die wahrscheinlich aus dem Kern ausgetreten waren, manchmal war auch die ganze Cyste diffus gefärbt. Eine zweikernige Cyste zeigte das Glykogen in diffuser Verteilung, vierkernige Cysten waren in den nach Best gefärbten Präparaten nicht zu finden. In einer achtkernigen Cyste waren nur die Kerne rot gefärbt.

Daß einige Cysten die Karminfarbe nicht angenommen hatten, lag wohl nur an der für die Dicke der Membran nicht genügend langen Einwirkung der Farbe.

Durch 24 stündiger Einwirkung von Pepsinsalzsäure bei 37° C wurden die Chromatinmassen und Kerne nur zum kleinen Teil verdaut.



Bei den vielleicht nicht encystierten Formen war z. T. der Kern undeutlich, Chromidien waren meist nur in geringem Maße oder gar nicht vorhanden.

Bestimmt zu identifizieren ist diese Amöbe noch nicht, da ihr ganzer Entwicklungskreis noch nicht bekannt ist. Die Achtkernigkeit der Cysten deutet ja auf *Entamoeba coli* hin, doch kann man auf Grund dessen nicht ihre Zugehörigkeit zu dieser Art mit aller Sicherheit bestimmen.

Zum Schluß ist es mir eine angenehme Pflicht, Herrn Dr. v. PROWAZEK für seine freundlichen Anregungen und Ratschläge, die er mir gab, meinen besten Dank abzustatten.

*Nachdruck verboten.  
Übersetzungsrecht vorbehalten.*

(Aus dem Institut für Schiffs- und Tropenkrankheiten.  
Leiter: Obermedizinalrat Prof. Dr. Nocht.)

## **Über generative Vorgänge bei *Amoeba chondrophora* n. sp.**

Von  
**Arthur Arndt** (Hamburg).

(Hierzu Tafel 3.)

---

### **Inhalt.**

- I. Einleitung.
- II. Material und Methoden.
- III. Morphologie und Biologie.
  - a) Protoplasma und Bewegung.
  - b) Kern, cyclische Vorgänge, Teilung.
  - c) Cysten.
- IV. Die generativen Vorgänge.
- V. Literatur.
- VI. Tafelerklärung.

---

### **I. Einleitung.**

Die vorliegende Untersuchung beschäftigt sich mit generativen Vorgängen bei einer neuen Amöbe. Ich hatte gehofft, bei diesem scheinbar günstigen Objekt den vollständigen Lebenscyclus ermitteln zu können. Das ist mir leider nicht gelungen, da ich mich nicht ausschließlich dem Studium dieser Vorgänge widmen konnte. Wenn

ich trotzdem die bisherigen Ergebnisse meiner Untersuchungen veröffentlichte, so geschieht das aus dem Grunde, weil ich diese vorläufig abrechnen muß und weil mir das Gefundene auch in dieser Weise von Wichtigkeit zu sein scheint. Es war mir auch nicht möglich, die gesamte Literatur kritisch zu berücksichtigen, doch werde ich in einer späteren Arbeit darauf zurückkommen.

Es sei mir gestattet, an dieser Stelle Herrn Dr. v. PROWAZEK meinen Dank auszusprechen für das Interesse, mit dem er diese Untersuchungen begleitete, sowie für die Unterstützung, die er ihnen zuteil werden ließ.

---

## II. Material und Methoden.

Die Amöben fand ich zuerst im September 1912 in einem Aufguß auf Gras, das von den städtischen Anlagen an der Alster stammte. Er enthielt neben der Amöbe einen nicht näher bestimmten Flagellaten sowie *Colpidium*. Ich stellte die Kultur, die in dem Augenblick nicht von Interesse für mich war, beiseite und ließ sie eintrocknen. Im Dezember 1912 goß ich aufs neue Wasser auf. Nach 2 Tagen hatte sich eine Kahlhaut gebildet, die neben dem Flagellaten und *Colpidium* reichlich einkernige Amöben enthielt. Als ich am folgenden Tage ein Stückchen Kahlhaut unter dem Mikroskop untersuchte, fand ich nur ganz wenige einkernige Tiere, dagegen sehr viel zweikernige. Um einfache Teilungsstadien konnte es sich hierbei nicht handeln, da bei keinem dieser Tiere Körperteilung erfolgte; wohl aber teilten sich bei einigen beide Kerne, so daß auf diese Weise vierkernige Amöben entstanden. Es gelangten auch solche mit 3, 5 und 6 Kernen zur Beobachtung. Von diesen Tieren aus wurden Kulturen auf Agar angelegt. Benutzt wurde dazu der Nähragar in Röhren, wie er im Institut zur Bakterienzüchtung in Anwendung kommt (Fleischwasser 100 T., Agar 2 T., Pepton 1 T., Kochsalz 0,5 T.). Schon nach 2 Tagen hatten sich bei Zimmertemperatur reichlich Amöben entwickelt. Ich habe mit dieser Methode die besten Erfolge zu verzeichnen gehabt und sie darum auch hauptsächlich angewandt, vor allem da, wo es mir darauf ankam, die Vorgänge in den Cysten zu studieren. Zum Studium der freien Amöben im Präparat wurden Kulturen auf Agar- und Fucusplatten angelegt, die gleich gute Züchtungsergebnisse ergaben. Auch auf Gelatine zeigten die Amöben üppiges Wachstum.

Die Amöben auf Eiweiß zu züchten, ist mir nicht gelungen. Ferner konnte ich niemals Kulturen erhalten, wenn ich ein Stückchen Agar mit Amöben in Leitungswasser brachte. Ich habe dagegen sehr schöne Kulturen erhalten, wenn ich die Amöben in Agarwasser brachte, das durch Kochen des gewöhnlich benutzten Agars mit der 5—15fachen Menge Leitungswasser hergestellt wurde.

NÄGLER (1909) gibt an, daß seine Kulturen mit anderen Amöben verunreinigt gewesen seien. Allerdings „verschwanden später die limaxartigen Amöben“. Das erscheint mir in hohem Grade zweifelhaft, insbesondere, da NÄGLER zwei Seiten weiter schreibt: „Zu Beginn der in den Cysten dieser Form vor sich gehenden und genauer untersuchten Autogamie verkleinern sich nun die Individuen durch successive Zweiteilung, so daß oft eine Unterscheidung von den kleineren Limaxformen schwierig wurde. Doch habe ich alle Übergangsstadien der Größenveränderung aufgefunden und kann mit ziemlicher Bestimmtheit<sup>1)</sup> sagen, daß die zu beschreibende Autogamie in den Cysten dieser Form vor sich geht.“ Das beeinträchtigt den Wert der diesbezüglichen Untersuchungen NÄGLER's und läßt eine Nachprüfung seiner Ergebnisse angesichts ihrer hohen theoretischen Bedeutung wünschenswert erscheinen. Auch ARAGÃO<sup>2)</sup> hat nicht mit Reinkulturen gearbeitet, so daß er vielleicht zwei äußerlich sehr ähnliche Amöbenarten vor sich gehabt hat, die er zu einer Art, *Amoeba diplomitotica*, vereinigt hat; es können also auch seine Ergebnisse bezüglich des doppelten Kernteilungsmodus nicht als vollwertig gelten.

Um ganz sicher zu gehen, daß ich nur eine Amöbenart vor mir hatte, habe ich Kulturen von einem Tier aus angelegt, so daß ich durchaus für die Reinheit meiner Kulturen einstehen kann. Die Anlegung einer solchen Kultur bietet erhebliche Schwierigkeiten, sie ist mir darum später, als ich aus anderen Gründen die Versuche wiederholte, nicht mehr geglückt. Leider war es mir nicht möglich, die Amöben mit einer einzigen Bakterienart zu züchten, was auch bei der Deutung meiner Befunde in einigen Punkten Schwierigkeiten machte.

Die Tiere wurden lebend ungefärbt, mit Neutralrot-Methylenblau vitalgefärbt und im Dunkelfeld untersucht.

Die Präparate von den in Agarröhrchen gezüchteten Amöben stellte ich in der Weise her, daß ich mit der ausgeglühten Platin-

<sup>1)</sup> Sperrdruck von mir.

<sup>2)</sup> ARAGÃO, H. de B. (1909): Über eine neue Amöbenart, *Amoeba diplomitotica*. Mem. do Inst. Oswaldo Cruz Tomo 1.

öse etwas von dem Belag auf dem Agar nahm, in 0,5proz. Kochsalzlösung tauchte, schnell auf dem Deckgläschen verrieb und dann sofort fixierte. Ich erhielt auf diese Weise im allgemeinen sehr gleichmäßige Ausstriche, die stets Tausende von Tieren enthielten.

Die Fixierungsflüssigkeiten waren vorwiegend Sublimatalkohol heiß (60°) und starkes FLEMMING'sches Gemisch. Bei Sublimatalkohol betrug die Fixierungsdauer 5 Min.—24 Std. Mir scheint, daß kürzere Fixierungsdauer bessere Resultate zeitigt als längere, mit Ausnahme bei nachfolgender GIEMSA-Färbung.

Gefärbt wurde zur Hauptsache mit Eisenhämatoxylin nach HEIDENHAIN. Es kamen dabei folgende Zeiten in Anwendung:

Beizen a) 2 (—6) Std.	Färben a) 12 (—24) Std.
b) 12—24 Std.	b) 48 Std.
c) 36—50 Std.	c) 5 (—7) Tage.

Ich habe in allen Fällen gute Resultate erhalten; die sichersten jedoch, und die klarsten Bilder ergaben die Färbungen der Serien b und c. Besonders hervorheben möchte ich die Serie c, Beizen 36—50 Std., Färben 5 Tage, da die hierbei erhaltenen Bilder die der anderen Serien hinsichtlich der Klarheit noch übertrafen.

Daneben kamen zur Anwendung:

2. Färbung mit Hämalaun, die sehr gute Resultate ergab, wenngleich die Schärfe der mit Eisenhämatoxylin erzielten Bilder bei weitem nicht erreicht wurde.

Ähnlich wirkten:

3. Färbung mit BÖHMER's Hämatoxylin,
4. Färbung mit DELAFIELD's Hämatoxylin,
5. VAN GIESON'sche Färbung.

Ausgezeichnete Resultate erhielt ich mit einer kombinierten

6. VAN GIESON-Methylenblaufärbung.

- a) Überfärben mit BÖHMER's Hämatoxylin,
- b) Auswaschen in fließendem Wasser,
- c) VAN GIESON-Lösung (GRÜBLER) 2—5 Minuten, je nach dem Grad der Überfärbung,
- d) Abspülen in destilliertem Wasser 20—30 Sekunden,
- e) Färben in Methylenblau 1‰ wässrig ca. 5 Sekunden.  
Alk. 70 Proz., Alk. abs., Xylol.

Die Kerne sind dunkelrotbraun gefärbt, das Plasma hellrotbraun. Die innere Cystenmembran ist tiefblau, die äußere hellblau gefärbt (Fig. 1).

**7. Färbung nach BORREL.**

Magentarot conc. wäss. 15—20 Minuten, ohne Abspülen.

Pikrinsäure conc. wäss. Indigokarmin 1:1 5 Minuten. Ohne Abspülen eventuell abtrocknen (nicht austrocknen lassen!), Alkohol absol., Xylol. Nachdifferenzieren in Alkohol 96proz. bei Kontrolle unter dem Mikroskop. Bei gut gelungener Färbung zeichnen sich die Präparate durch große Klarheit aus.

8. GIEMSA-Färbung: Die Cysten nehmen den Farbstoff begierig auf und färben sich so dunkel, daß eine Unterscheidung zwischen chromatischen und achromatischen Substanzen nicht möglich ist. Bei freien Amöben habe ich mit dieser Färbung manchmal sehr gute Resultate erzielt, doch ist sie unsicher.

9. Mitochondrienfärbung nach BENDA (Enzyklopädie der mikroskopischen Technik, II. Auflage, 1910, Bd. II, p. 197). Bei Anwendung dieser Methode werden die Cystenhüllen aufgelöst.

**10. GRAM'sche Färbung.**

Außerdem kamen zur Anwendung die Granulafärbung nach ALTMANN, die Färbung nach MALLORY, Färbung mit Safranin, Boraxkarmin; doch zeigten alle diese Färbungen nichts Besonderes.

---

**III. Morphologie und Biologie.****a) Protoplasma und Bewegung.**

Die Größe der Amöbe schwankt beträchtlich, zwischen 6 und 30  $\mu$ , die Mehrzahl der Tiere mißt 15—18  $\mu$ . Beim abgekugelten, ruhenden Tier ist im allgemeinen nur eine einzige gleichmäßige Masse zu erkennen; eine Sonderung in Ecto- und Entoplasma scheint nicht vorhanden zu sein. Bei Dunkelfeldbeleuchtung sieht man jedoch, daß auch dann meistens ein schmaler Ectoplasmasaum das Entoplasma umgibt. Bei beginnender Bewegung treten beide Plasmaarten deutlich hervor. Sie bleiben auch dann getrennt, wenn die Amöbe durch Druck des Deckglases am Fortkriechen gehindert wird, also auch nicht mehr fähig ist, Kugelgestalt anzunehmen. Das Ectoplasma erscheint bei gewöhnlicher Beobachtung vollkommen hyalin; es ist schwach lichtbrechend. Die Beobachtung im Dunkelfeld lehrt aber, daß es sich aus zwei Bestandteilen zusammensetzt, aus einer hyalinen Grundsubstanz, die jedoch oft eine milchige Trübung zeigt, und darin suspendierten, kleinen Teilchen. Diese führen

lebhaft, tanzende Bewegungen aus, wobei sie in keiner Weise beschränkt sind, sich also unabhängig voneinander bewegen. Eine Struktur des Ectoplasmas habe ich, trotz eifrigsten Nachforschens niemals entdecken können; sie scheint auch nach dem Vorhergesagten ausgeschlossen. Das Entoplasma enthält gleichfalls eine homogene Grundsubstanz. Sie ist von der des Ectoplasmas nicht zu unterscheiden, auch ist keine Grenze zwischen beiden wahrzunehmen. In dieser Grundsubstanz finden wir zwei verschiedene Arten von Inhaltskörpern, die als Bestandteile des Entoplasmas zu betrachten sind und sich durch Zahl und Größe unterscheiden. Die kleineren sind in der Größe gleich denen im Ectoplasma. Sie bilden die Hauptmasse des Entoplasmas. Die größeren sind in geringerer Zahl vorhanden. Auch die Entoplasmagranula führen tanzende Bewegungen aus, doch sind sie in ihrer Bewegung beschränkt. Die kleineren Körnchen bilden Körnerkomplexe, die als ganze hin- und herschwingen, sich einander nähern und voneinander entfernen, dabei jedoch auch unter sich einen gewissen Zusammenhang bewahren und niemals sich durcheinander bewegen. Das scheint auf eine Struktur des Entoplasmas hinzuweisen, jedenfalls sind die kleineren Körner als Strukturelemente des Protoplasmas aufzufassen. — An dieser Stelle möchte ich noch über eine Erscheinung berichten, die ich zweimal im Dunkelfeld beobachten konnte. Ich hatte eine Amöbe unter dem Deckglas zerdrückt. Dabei war das Ectoplasma an einer Stelle zerrissen, und das Entoplasma stand im Kontakt mit dem umgebenden Wasser. Während im allgemeinen die körnigen Bestandteile des Entoplasmas ruhig an dem Platze bleiben, trat hier eine Auflösung des Entoplasmas ein. Es lösten sich an der freien Stelle ganz feine Fäden los, die sich nur noch eben als helle Linie vom dunklen Untergrund abhoben. Von den Myelinfäden, die KÖLSCH (1902) bei der Zerfließung von Infusorien beobachtet hat, unterscheiden sie sich wesentlich. Sie enthielten in gewissen Abständen kleine Körner, die als die vorhin beschriebenen Entoplasmakörner anzusehen sind. Die Fäden wurden manchmal bis zur dreifachen Länge des Tieres ausgezogen und rissen dann oft ab. Sie vollführten passiv nutierende und undulierende Bewegungen. Etwa bis zu einem Drittel der Entoplasmamasse hin war diese Auflösung zu beobachten. Das Netzwerk, das die Fäden bildeten, wurde nach der Hauptmasse des Entoplasmas zu immer dichter, um schließlich in diese selbst überzugehen. Ob es sich bei den Fäden um eine primäre, also zu einer Protoplasmastruktur gehörige Bildung handelt, oder um eine sekundäre, durch die Berührung mit Wasser hervor-

gerufene, läßt sich vorläufig nicht entscheiden; da jedoch diese Erscheinung mit dem Obengesagten sehr wohl in Einklang zu bringen ist, erscheint mir der Befund immerhin beachtenswert; ob ihm allgemeine Gültigkeit zukommt, müssen spätere Beobachtungen lehren. Ich halte, wie ich bereits gesagt habe, die kleineren Körner für Strukturelemente des Entoplasmas, aber auch die größeren beobachteten Körner möchte ich als solche ansehen. Vielleicht sind sie mit den von FAURÉ-FREMIET (1910) bei einer größeren Amöbe gefundenen Körpern, die er als Mitochondrien bezeichnet, zu identifizieren. Während sie bei jener Form in großer Zahl auftreten, sind sie bei meiner Amöbe gewöhnlich nur in geringer Zahl vorhanden. Sie unterscheiden sich auch von jenen dadurch, daß sie im Dunkelfeld sehr hell erscheinen, während FAURÉ-FREMIET, allerdings nur im allgemeinen, angibt, daß die „Mitochondrien“ sich kaum vom Dunkelfeld abheben. In den Cysten fand ich sie meist in großer Zahl, desgleichen in eben aus der Cyste geschlüpften Tieren. Hier nahm ihre Zahl rasch ab und nach einer halben Stunde traten sie gegenüber anderen Inhaltskörpern fast ganz zurück. Durch Chromatinfarbstoffe lassen sie sich im freien Tier nicht färben; auch gelang es mir bis jetzt nicht, sie in einwandfreier Weise nach der BENDA'schen Methode darzustellen. Sie färben sich in diesem Fall zwar, doch ist der Unterschied zwischen ihrer Farbe und der des Kernes so gering, daß ihre Natur nicht mit Sicherheit zu erkennen ist. In einer späteren Arbeit werde ich auf diesen Gegenstand noch zurückkommen.

Das Verhältnis zwischen Ectoplasma und Entoplasma ist kein konstantes; doch lehrte die Beobachtung, daß die Amöben, die auf flüssigeren Medien kultiviert waren, stets mehr Ectoplasma aufwiesen als die von festeren Nährböden. Im ersteren Fall betrug die Ectoplasmamasse nicht selten bis zu zwei Dritteln des ganzen Tieres, im letzteren bis höchstens ein Drittel.

Die kontraktile Vacuole ist gewöhnlich in der Einzahl vorhanden. Sie besitzt etwa die Größe des Kernes. Ihre Lage im Entoplasma ist keine bestimmte, meist befindet sie sich am Hinterende des Tieres. Die Frequenz ist sehr schwankend; eine mittlere Zeit ist dafür nicht angebbar. Oft findet man Amöben mit zwei kontraktilen Vacuolen; doch ist dies eine vorübergehende Erscheinung. Manchmal tritt kurz vor der Entleerung eine Verschmelzung beider ein; häufiger findet nacheinander folgende Entleerung statt. Seltener sind Amöben mit drei pulsierenden Vacuolen beobachtet worden.



Neben diesen enthält das Entoplasma größere und kleinere Nahrungs- und Flüssigkeitsvacuolen in mehr oder minder großer Zahl. Nicht selten tritt bei den Amöben eine stärkere Vacuolierung des Plasmas ein, die auf äußere Einflüsse zurückzuführen ist. Ferner kommt es oft zur Bildung der sog. Cavula.<sup>1)</sup> Man kann sie durch Druck hervorrufen, auch entstehen sie, wenn die Amöben vom Nährboden in Leitungswasser gebracht werden. Bei diesen Tieren tritt meist nach einiger Zeit der Tod ein. FAURÉ-FREMIET (1910) gibt an, daß die Cavula umgewandelte, aufgequollene Mitochondrien darstellten, v. PROWAZEK<sup>1)</sup> (1910) und KÖLSCH (1902) führten sie auf tropfige Entmischung des Protoplasmas zurück. Ich halte die letztere Erklärung für wahrscheinlicher.

Im Ruhezustand nimmt die Amöbe Kugelform an. Bei beginnender Bewegung treten an verschiedenen Stellen des Körpers kleine Lobopodien auf. Es entstehen weitere Lobopodien in der Nähe der ersten, und an diesen Stellen sammelt sich das Entoplasma, bis schließlich die Bewegung des Körpers nach einem derselben hin erfolgt. Dann brechen an anderer Stelle des Körpers neue Pseudopodien hervor, und die Amöbe kriecht in einer anderen Richtung fort. Erst nach einiger Zeit bildet sich ein Hinterende, das dann als solches erhalten bleibt und im allgemeinen passiv nachgeschleppt wird. Es ist meist mit Bakterien, Nahrungsresten und dergleichen behaftet, die sich allmählich lösen und zurückbleiben. Die Pseudopodienbildung ist sehr lebhaft, wengleich man unter dem Deckglas nicht selten Amöben von der Limaxform antrifft. In den Agarwasserkulturen haben die Amöben niemals diese Form, vielmehr zeigen dort alle Tiere reichlich Pseudopodienbildung. Ich halte darum das Annehmen der Limaxform für eine Reaktion der Amöbe auf gewisse äußere Reize mechanischer Art, ähnlich wie es von GLÄSER (1912) für die Radiosaform wahrscheinlich gemacht wurde. Die Bewegung ist je nach dem Kulturmedium verschieden schnell; in flüssigen Medien erfolgt sie oft so rasch, daß sie nicht mit dem Zeichenapparat zu verfolgen ist. Manchmal tritt eine Verlangsamung ein, ja, die Bewegung kann völlig aufhören, ohne daß die Tiere sich abkugeln. Nachdem sie einige Zeit in diesem Zustand der Starre verharret haben, nehmen sie wieder die Bewegung auf, die bald ihre frühere Geschwindigkeit erreicht.

Körnchenströmung, wie sie NÄGLER beschreibt, ist nicht vorhanden. Die Körnchen des Entoplasmas bewegen sich stets nur in

PROWAZEK, S. v.: Studien zur Biologie der Protozoen. V. Arch f. Protistenk. Bd. 20.

der Kriechrichtung, eine seitliche, rückwärts gerichtete Körnchenströmung tritt nicht auf.

Das Hinterende der Amöbe ist oft zu Fäden ausgezogen. Sie haben gewisse Ähnlichkeit mit denen, die HAMBURGER<sup>1)</sup> für *Amoeba salina* H. beschreibt. Aber während sie bei jener Form eine ständige Einrichtung sind, finden sie sich bei meiner Amöbe nur zeitweilig. Sie entstehen dadurch, daß das Hinterende der Amöbe an der Unterlage in einzelnen Punkten haften bleibt, wodurch beim Weiterkriechen das Protoplasma zu einem mehr oder weniger langen Faden ausgezogen wird. Der Faden löst sich nach einiger Zeit von der Unterlage los, oder er reißt kurz vor der Anheftungsstelle ab. Im ersteren Fall endet er in einem Tröpfchen, im letzteren läuft er meist spitz aus. Die Länge dieser Fäden ist oft recht beträchtlich. In einem Falle übertraf sie die des Tieres um das Dreifache. Dabei sind die Fäden überall fast genau gleich dick, ca.  $\frac{1}{5}$ — $\frac{1}{10}$   $\mu$ , nur nach der Basis zu verbreitern sie sich ein wenig. Sie erscheinen selten in größerer Zahl, meistens finden sich drei bis fünf davon an einem Tier. Oft führen sie aktiv nutzierende Bewegungen aus. Daß diese Fäden der Nahrungsaufnahme dienen, wie es HAMBURGER bei *Amoeba salina* vermutet, erscheint mir in Anbetracht der reichlich vorhandenen Nahrung zweifelhaft. Zudem habe ich auch nie Bakterien an ihnen haften sehen. Wegen ihrer geringen Dicke entziehen sie sich leicht der Beobachtung. Im Dunkelfeld hingegen, wo man auch ihre Entstehung schön beobachten kann, treten sie deutlicher hervor.

### b) Kern, cyclische Vorgänge, Teilung.

Der Kern der Amöbe tritt beim freien Tier stets deutlich hervor. Er ist gewöhnlich in der Einzahl vorhanden, nur zu gewissen Zeiten tritt Zweikernigkeit auf, die wohl sicher mit generativen Vorgängen in Zusammenhang steht. Ich habe diese Perioden nur wenige Male beobachtet; sie erstreckten sich stets nur über ganz kurze Zeit und traten etwa im Abstände von 6 Wochen auf. Einen direkten Zusammenhang mit den Vorgängen in den Cysten habe ich nicht mit Bestimmtheit nachweisen können, wenngleich gewisse Erscheinungen dafür sprechen. (Siehe unter „Generative Vorgänge“).

Der Kern ist von einer zarten aber widerstandsfähigen Membran umgeben, die besonders bei plötzlichen Formveränderungen, sowie

<sup>1)</sup> HAMBURGER, CLARA (1905): Zur Kenntnis der *Dunaliella salina* und einer Amöbe aus Salinenwasser von Cagliari. Arch. f. Protistenk. Bd. 6.

bei gepreßten oder zerpreßten Tieren deutlich sichtbar wird. Sie bleibt auch dann noch erhalten, wenn die Amöbe bereits zerflossen ist. Von Außenchromatin ist beim freien Tier keine Spur vorhanden, wohl aber sieht man zuweilen feine Fäden, die von der Membran nach dem Caryosom führen und auch in den Präparaten häufig zu finden sind. Das Caryosom bildet beim freien Tier den Hauptbestandteil des Kerns. Seine Größe schwankt jedoch beträchtlich; kurz nach der Excystierung schwillt es an, so daß es oft nur durch eine schmale Kernsaftzone von der Membran getrennt ist; vor der Encystierung wird es wieder kleiner. Es zeigt zu verschiedenen Zeiten einen verschiedenen Aufbau, der aber beim Caryosom des lebenden Tieres oft nicht erkennbar ist. Im Dunkelfeld treten auch in diesem Fall Einzelheiten deutlicher hervor. Dort sieht man, daß das Caryosom zuweilen eine kompakte Masse bildet; meist erscheint es aus mehreren Brocken zusammengesetzt; häufig zeigt es einen körnigen Aufbau. Das deutet auf cyclische Vorgänge hin. Ein Centriol habe ich nicht nachweisen können. Bei gepreßten Tieren sieht man manchmal ein zentrales Korn; in der Regel jedoch ist dies nicht zu bemerken. Auch bei Kernteilungsstadien zeigten sich mehrmals Andeutungen von Centriolen und Centrodemosen; doch waren diese Gebilde stets so undeutlich, daß sie nicht als Beweis für das Vorkommen von Centriolen gelten können. In den nach BORREL gefärbten Präparaten erscheint das Caryosom stets als einheitliches Gebilde. In den mit Hämalan, Hämatoxylin und VAN GIESON gefärbten Präparaten zeigt es sich meist aus einzelnen größeren Brocken zusammengesetzt. Nur die Färbung mit Eisenhämatoxylin läßt den feineren Bau des Caryosoms deutlicher hervortreten. Es zeigt alsdann alle drei oben beschriebenen Arten der Zusammensetzung. Bei scharfer Differenzierung hinterbleibt oft ein einziges zentrales Körnchen. Es ist aber verfehlt, dieses als Centriol zu betrachten, da ebenso oft zwei und drei gleicher Körnchen zu finden sind. Der sichere Nachweis von Centriolen kann nur durch eine elektive Färbung erbracht werden. Daß eine solche möglich ist, glaube ich aus der Funktion dieses Gebildes, die auf eine besondere chemische Konstitution schließen läßt, annehmen zu dürfen.

Die Teilung der Amöben findet in der Regel zwischen 2 und 6 Uhr morgens statt. Der Kernteilungsmodus, der als Promitose anzusprechen ist, weicht in einzelnen Punkten von den Teilungsmodi ab, die NÄGLER (1909) und GLÄSER (1912) beschrieben haben. Abbildungen gebe ich an dieser Stelle nicht, da ich bis jetzt nicht

alle Stadien der Kernteilung wie auch der cyclischen Vorgänge im Kern lückenlos auffinden konnte; ich werde später darauf zurückkommen.

### c) Cysten.

Einige Zeit nach Anlegung neuer Kulturen beginnen die Amöben sich zu encystieren. Die Zeitdauer von der Überimpfung bis zur Encystierung ist sehr schwankend; vor allem richtet sie sich nach den Kulturmedien und nach der Temperatur. In flüssigen Medien findet man erst nach 6 Tagen beginnende Encystierung, bei Kultivierung auf festen Nährböden nicht selten schon nach 2 Tagen. Höhere Temperaturen beschleunigen den Eintritt der Encystierung.

Die Encystierung kann durch äußere Anlässe verschiedener Art herbeigeführt werden; so können Nahrungsmangel, aber auch überreichliche Bakterienentwicklung, Sauerstoffmangel, Überhandnehmen der Stoffwechselprodukte, drohende Austrocknung, Veränderung des Mediums, Temperaturänderung die Encystierung zur Folge haben. Ich halte diese Faktoren, im Gegensatz zu VAHLKAMPF (1905) und NÄGLER (1909), für weniger bedeutsam, wengleich die Encystierung in einzelnen Fällen allein auf die Wirkung eines oder einiger dieser äußeren Faktoren zurückzuführen ist. In der Regel trifft das nicht zu; unter gewöhnlichen Umständen kommt ihr Einfluß erst in zweiter Linie in betracht, sie wirken dann eben nur als Anlässe. Dagegen liegt die Ursache der Encystierung in den Tieren selbst. Sie würde erfolgen und erfolgt auch, wenn der Einfluß jener Faktoren auf ein Minimum beschränkt wird. Das beweist folgender Versuch.<sup>1)</sup> Impft man die freien Amöben fortgesetzt auf frischen Nährboden über, ohne daß man ihnen Zeit läßt, sich zu encystieren, so treten bald, in etwa 2 Wochen, Degenerationserscheinungen auf, die zunächst nur an einzelnen Tieren bemerkbar werden, sich aber später in der ganzen Kultur zeigen. Die Amöben weisen ein verändertes Aussehen auf: ihre Oberfläche schrumpft zusammen, Pseudopodien werden nicht mehr ausgebildet; statt dessen entstehen Wülste, die ihrerseits wieder Ausstülpungen tragen. Den

<sup>1)</sup> VAHLKAMPF (1905) schreibt dazu: „... Erfolgte aber Cystenbildung, so geschah dies bei allen Amöben derselben Kultur gleichzeitig, während sie bei denjenigen, welche rechtzeitig auf frische Nährböden übergeimpft wurden, unterblieb. Hieraus ergibt sich, daß die Amöben sich nur encystieren, wenn sie durch eine äußere Ursache (Sperrdruck im Original): Mangel an Nahrung oder Feuchtigkeit usw. dazu gezwungen wurden.“ Meine Versuche haben das entgegengesetzte Resultat ergeben.

Tieren geht die Fähigkeit, sich anzuheften, verloren; die normale fließende Bewegung wird durch eine Art rollender ersetzt, die darauf beruht, daß durch die Entstehung eines neuen Wulstes der Schwerpunkt verlegt wird, so daß die Amöbe gewissermaßen umkippt. Vielfach werden größere und kleinere Protoplasmastücke vom Amöbenkörper abgeschnürt, die noch längere Zeit weiterleben, endlich aber zugrunde gehen; bei ihnen erfolgen die Ausstülpungen von Wülsten oft außerordentlich rasch nacheinander. Viele Tiere gehen ganz zugrunde. Mit der Dauer des Versuchs nimmt die Neigung der Amöben, sich zu encystieren, in immer stärkerem Grade zu, so daß nach einem Monat schon von Tag zu Tag überimpft werden muß und nach 6 Wochen die Zeit von der Überimpfung bis zur Encystierung auf 22 Stunden herabsinkt. Außerdem vermindert sich die Teilungsgeschwindigkeit bedeutend. Alle diese Erscheinungen lassen sich auf keinen Fall auf den Einfluß der oben genannten Faktoren zurückführen, da jene bei dem Versuch ausgeschaltet sind. — Für meine Behauptung spricht ferner, daß stets einige Zeit nach der Encystierung wieder freie Amöben in den Kulturen auftreten; selbst in den Kulturen, die bereits  $\frac{1}{2}$  Jahr alt waren, konnten freie Tiere beobachtet werden. Diese Tatsachen beweisen, daß die Encystierung aus inneren Ursachen, aus einem Renovationsbedürfnis heraus erfolgt. Über die Renovationsvorgänge, die sich in den Cysten abspielen, siehe unten.

Bei Beginn der Encystierung tritt zunächst eine Verlangsamung der Bewegung ein; darauf rundet sich die Amöbe ab, die Vacuolen verschwinden und die Cystenhüllen bilden sich. Häufig bemerkt man vor der Encystierung, wenn die Tiere sich noch frei bewegen, eine Ansammlung von stark lichtbrechenden Körnchen rings um die Kernmembran herum. Auch VAHLKAMPF beschreibt das Auftreten von Körnchen vor der Encystierung. Ich halte sie für identisch mit den unten zu beschreibenden „Mitochondrien“.

Die encystierte Amöbe ist zuerst nur von einer Hülle umgeben. Auf diesem Stadium ist sie noch der Färbung mit Neutralrot zugänglich. Nach Abscheidung der zweiten Hülle nimmt sie den Farbstoff nicht mehr auf. An der fertigen Cyste lassen sich im Leben Einzelheiten nur schwer oder gar nicht erkennen. In einzelnen Fällen tritt der Kern besonders deutlich hervor. Sein Caryosom ist bedeutend kleiner als beim freien Tier.

Die Größe der Cysten schwankt, gleich der der freien Tiere, innerhalb weiter Grenzen; die Extreme sind  $5\frac{1}{2}$   $\mu$  und 13  $\mu$ , das Mittel beträgt ca.  $8\frac{1}{2}$   $\mu$ .

Mit der Encystierung gehen durchgreifende Veränderungen an Kern und Plasma vor sich, die aber nur an fixierten und gefärbten Tieren erkennbar werden.

Die Cysten sind von zwei Hüllen umgeben, die sich besonders gut nach der VAN GIESON-Methylenblaufärbung darstellen lassen (Fig. 1). Die innere Hülle ist dicker, sie ist fast genau kugelförmig, und der Körper der Amöbe liegt ihr meist eng an, die äußere ist dünner und erleidet meist stärkere Schrumpfungen.

Das Plasma enthält eine oder mehrere kleinere Vacuolen, oft fehlen diese ganz. Bei degenerierenden Tieren ist das Plasma manchmal grob vacuolisiert.

Im Plasma treten die oben erwähnten Körperchen („Mitochondrien“)<sup>1)</sup> auf. Sie sind entweder regellos darin verteilt (Fig. 2) oder konzentrisch um den Kern herum angeordnet (Fig. 3). Zuweilen scheinen sie der Cystenmembran anzuliegen. Sie färben sich mit Eisenhämatoxylin bei kürzerer Einwirkung (24, 48 Stunden) tiefschwarz, so daß zwischen ihrer Farbe und der des Kernes kein Unterschied besteht (Fig. 4). Bei längerer Färbedauer (36 Stunden, 5 Tage) aber und nachfolgender starker Differenzierung erhält man eine von der des Kernes unterschiedliche Färbung (Fig. 5, 8, 9, 18). Mit Chromatinfarbstoffen, Hämatoxylin, Hämalaun, VAN GIESON-Färbung lassen sich die „Mitochondrien“ nicht zur Darstellung bringen, desgleichen nicht mit der Färbung nach BORREL und mit der GRAM-schen Färbung. Nach der BENDA'schen Methode färben sie sich wie echte Mitochondrien, wengleich auch hier der Unterschied zwischen der Farbe des Kernes und der der „Mitochondrien“ nicht sehr beträchtlich ist. Immerhin ist er größer als bei den freien Amöben. Wegen ihrer starken Färbbarkeit mit Eisenhämatoxylin verdecken sie leicht die generativen Vorgänge, die sich auch in den Cysten abspielen. Nur durch langes Beizen und Färben konnte ich in allen Fällen eine differente Färbung von „Mitochondrien“ und Caryosomchondrien (s. u.) erzielen (Fig. 8, 9, 15, 18).

Die „Mitochondrien“ der *Amoeba chondrophora* scheinen im Leben dieses Tieres eine bedeutende Rolle zu spielen. Kurz vor der Encystierung bildet sich zunächst ein Kranz von diesen Körpern um die Kernmembran herum aus. Nach der Encystierung tritt eine

<sup>1)</sup> Da die Mitochondrienfärbung nach BENDA bei diesen Körperchen ein positives Ergebnis liefert, behalte ich für sie vorläufig den Namen „Mitochondrien“ bei. Damit soll jedoch nicht gesagt sein, daß ich diese Körper für identisch mit den Mitochondrien der Metazoen halte, wie FAURÉ-FREMIET es tut. Ich setze, um das hervorzuheben, das Wort „Mitochondrien“ in Anführungsstriche.

starke Vermehrung dieser Körner ein, wobei die konzentrische Anordnung erhalten bleibt. In welcher Weise diese Vermehrung erfolgt, kann ich nicht angeben; Teilungsstadien, wie sie FAURÉ-FREMIET (1910) beschreibt, habe ich nicht auffinden können. Jetzt zeigen sie auch die Fähigkeit, das Eisenhämatoxylin an sich zu reißen. Nach einiger Zeit verschwindet die konzentrische Anordnung und die Färbbarkeit mit E.-H. nimmt wieder ab. Nach der Excystierung nimmt auch ihre Zahl bald rasch ab. Die „Mitochondrien“ treten jedoch nicht bei jeder Encystierung in größerer Zahl auf, wie auch die konzentrische Anordnung nur in einem und zwar dem größeren Teil der Fälle zu konstatieren ist. Für eine Kultur hingegen sind mit wenigen Ausnahmen diese Vorgänge in den Cysten, die als Renovationsprozeß aufzufassen sind, die gleichen.

Über die chemische Natur der „Mitochondrien“ kann ich keine Angaben machen. FAURÉ-FREMIET stellt sie zu den Fettkörpern.

Die Bedeutung der „Mitochondrien“ für die Amöbe ist nicht einwandfrei zu erklären. Reservestoffe stellen sie nicht dar, da ihre Vermehrung und Ansammlung nicht in den freien Amöben erfolgt, sondern in den Cysten. Jedenfalls sind die „Mitochondrien“ Differenzierungen, Strukturelemente des Protoplasmas, die bei den beschriebenen Vorgängen in hohem Maße zur Renovation des Plasmas beitragen. Da ihre Zahl kurz nach der Excystierung abnimmt, so ist es wahrscheinlich, daß sie auch in anderer Weise an den Lebensvorgängen der Amöbe beteiligt sind, indem sie teilweise bei der Verdauung und beim Stoffwechsel im allgemeinen verbraucht werden.

Der Kern der Amöbe erleidet bei jeder Encystierung durchgreifende Veränderungen. Während bei der freien Amöbe das Caryosom den Hauptbestandteil des Kernes ausmachte, nimmt es bei und nach der Encystierung an Größe ab, und wird etwa bis auf die Hälfte oder noch stärker reduziert. Zugleich kommt es zur Entwicklung von Außenchromatin, das sich beim normalen freien Tier nicht findet. Es wird gebildet von dem Chromatin, das vom Caryosom nach der Kernmembran hin abgeflossen ist. So entstehen Kerne, wie die auf Fig. 1, 2, 3 abgebildeten. Das Außenchromatin ist durch feine Verbindungsfäden mit dem Caryosom verbunden, zuweilen sind es auch die Chromatinbrocken untereinander (Fig. 1). Kurz vor der Excystierung beginnt das Caryosom wieder anzuschwellen. Seine Vergrößerung dauert auch nachher noch so lange fort, bis es fast den ganzen Kernraum ausfüllt. Die Außenchromatinbrocken verschwinden mehr oder weniger schnell, spätestens innerhalb zweier Stunden; ihr Chromatin wird vom Caryosom aufgenommen.

Sowohl das Verhalten des normalen Kerns als auch das Auftreten der Mitochondrien bei der Encystierung halte ich für einen Beweis der oben gebrachten Behauptung, daß die Encystierung bei den Amöben aus inneren Gründen heraus erfolgt, während die oben erwähnten Faktoren nur als äußere Anlässe gelten können.

Es ist noch die Frage zu erörtern: Welche Rolle spielen die Vorgänge am Kern bei der Encystierung? und zugleich, in welcher Beziehung stehen sie zu den Vorgängen, an denen die Mitochondrien beteiligt sind? Leider blieb mir nicht die Zeit, mich eingehend mit diesen Fragen zu beschäftigen und sie endgültig zu lösen. Ich kann daher keine Erklärung der Ursachen und Folgen jener Vorgänge in biologischer Hinsicht geben, sondern nur eine Erklärung der Erscheinungen versuchen. — Zum Vergleich ziehe ich die Erscheinungen heran, die beim sog. LIESEGANG'schen Versuch auftreten: Bringt man auf Kaliumbichromatgelatine einen Tropfen einer starken Silbernitratlösung, so verbreitet sich das Silbernitrat durch Diffusion in der Gelatine. Dabei bilden sich Niederschläge von Silberchromat, die in der Nähe des Diffusionszentrums das Diffusionsfeld gleichmäßig durchsetzen. In einiger Entfernung vom Zentrum hört die gleichmäßige Verteilung auf. Das Silberchromat lagert sich jetzt in Ringen um das Diffusionszentrum ab, die durch niederschlagsfreie Zonen voneinander getrennt werden. Man bezeichnet sie nach dem Entdecker dieser Erscheinungen als LIESEGANG'sche Ringe oder LIESEGANG'sche Zonen. E. KÜSTER (1913) hat versucht diese und ähnliche Phänomene zur kausalen Erklärung gewisser Erscheinungen im Pflanzenreiche heranzuziehen. Auch im vorliegenden Fall ist ein Vergleich mit dem beschriebenen Phänomen wohl berechtigt. Danach würde das Protoplasma der Cyste, das ja auch als ein Gel oder wenigstens als ein Gemisch von Gelen anzusprechen ist, der Chromatgelatine entsprechen, das Caryosom ist als Diffusionszentrum anzusehen. Bei der Encystierung geht vom Caryosom ein Diffusionsstrom aus, der sich in dem Abfließen des Chromatins nach der Kernmembran hin äußert. Über die Stoffe, die dabei vom Caryosom fortströmen, läßt sich nichts aussagen. Vor der Kernmembran kommt es zur Ausbildung der ersten Zone. Hier sammelt sich das Chromatin. Dann tritt der Diffusionsstrom durch die Kernmembran hindurch in das Plasma über. Dort wird nun eine zweite Zone gebildet. In ihr kommt es zur Ansammlung und Neubildung oder Vermehrung der „Mitochondrien“, was in den anderen Teilen des Protoplasmas nicht stattfindet. Fig. 3 zeigt deutlich beide Zonen. — Die „Mitochondrien“ treten nicht nach jeder Encystierung in konzentrischer



Anordnung auf, und erscheinen nicht immer in so großer Zahl, wie bei dem Tier, das in Fig. 4 abgebildet ist. Aber auch dafür läßt sich an der Hand des LIESEGANG'schen Versuchs eine Erklärung finden. Beim LIESEGANG'schen Versuch ist die Ausdehnung und Stärke der Zonen abhängig vom Konzentrationsgrade der Chromatgelatine wie auch der Silbernitratlösung. Nun ist in unserem Falle folgendes zu berücksichtigen: Im Plasma der freien Amöben bilden sich fortwährend Stoffwechselprodukte, die aber nur zum Teil nach außen hin abgeschieden werden, zum Teil im Plasma bleiben und Veränderungen desselben hervorrufen. Diese Veränderungen werden um so bedeutender sein, je mehr der schädlichen Stoffe im Plasma angehäuft werden, d. h. je längere Zeit nach der Excystierung verstreicht. Tritt dann die Encystierung ein, so wird die Ausbildung der zweiten Zone um so stärker sein, je mehr der Stoffwechselprodukte sich im Protoplasma befinden, resp. je stärker die Veränderung des Protoplasmas war. Andererseits wird die Zonenbildung überhaupt nicht erfolgen, wenn die Encystierung aus einem rein äußeren Grunde erfolgt ist. — Ich selbst konnte, da es mir an Zeit mangelte, nicht mehr neue Versuche in dieser Richtung anstellen, so daß die gegebenen Erklärungen notgedrungen einen stark hypothetischen Charakter tragen müssen. Es würde mir jedoch genügen, wenn ich durch meinen Hinweis weitere Untersuchungen über diesen Gegenstand anregen könnte.

### III. Die „generativen“ Vorgänge.

Den eigentlichen Gegenstand meiner Untersuchungen bildeten die generativen Vorgänge, die sich in den Cysten dieser Amöbe abspielten. Leider war es mir nicht möglich, in einwandfreier Weise den Verlauf dieser Vorgänge von Anfang bis Ende festzustellen, also den vollständigen Lebenscyclus der *Amoeba chondrophora* aufzudecken, und auch in dem bisher Gefundenen mußten einige Unklarheiten bestehen bleiben. Auf Einzelheiten gehe ich unten näher ein. Aus den oben angeführten Gründen konnte ich diese Mängel nicht mehr tilgen; zu gelegener Zeit werde ich meine diesbezüglichen Untersuchungen wieder aufnehmen, da die Amöbe ein besonders günstiges Objekt dafür zu sein scheint.

Unter gewöhnlichen Umständen, d. h. in den Agarkulturen, traten die generativen Perioden in Zwischenräumen von 6—8 Wochen auf,

wenn die Tiere bald (1—2 Tage) nach der Encystierung übergeimpft wurden. Durch fortgesetztes Überimpfen ohne vorherige Encystierung ließen sich die betreffenden Vorgänge nicht mit Gewalt herbeiführen, wengleich bei den Amöben die Neigung, sich zu encystieren, mit der Dauer des Versuchs zunahm. Gewöhnlich zeigten sich diese Erscheinungen nur bei einem Teil der Tiere einer Kultur. Durch Zufall kam ich auf eine Methode, die es ermöglicht, in verhältnismäßig kurzer Zeit das Eintreten der generativen Vorgänge zu veranlassen. Ich hatte, wie schon erwähnt, Kulturen von einem Tier aus angelegt und weitergeimpft ohne die Encystierung abzuwarten. Nach der Encystierung traten in den Zweigkulturen die generativen Vorgänge ein. Bei Anwendung dieser Methode durchlaufen die Tiere eine große Zahl von Generationen, ehe ein äußerer Anlaß die Encystierung notwendig gemacht hätte. Ohne Zweifel verzögert die häufige Encystierung das Eintreten dieser Erscheinungen, da jedesmal auch Veränderungen am Kern vor sich gehen (s. o.). Der große Vorteil, den diese Methode bietet, besteht ferner darin, daß in den so erhaltenen Kulturen eine weit größere Zahl der Tiere die Erscheinungen zeigen. Daneben erlangt man die Sicherheit, daß man es stets mit nur einer Art von Amöben zu tun hat.

Vor dem Eintritt der generativen Vorgänge zeigt der Kern das Aussehen des normalen Cystenkerne. Häufig ist die Kernsaftzone schwächer ausgebildet als sonst (Fig. 6—9). Es erfolgt zunächst eine Einschnürung des Caryosoms und darauf die Teilung (Fig. 7, 8). Die entstehenden Teilstücke sind meist in der Größe verschieden (Fig. 7, 8). Ein Centriol tritt bei der Teilung nicht auf! Häufig werden vom Caryosom gleichzeitig zwei Stücke abgeschnürt (Fig. 9). — Das kleinere der beiden Teilstücke wandert aus dem Kern ins Plasma hinüber (Fig. 10). Hier teilt es sich, nachdem es zuvor an Größe zugenommen hat (Fig. 12). Die Teilstücke bleiben entweder zusammen, oder sie rücken auseinander (Fig. 13—16). Fig. 12 ist jedoch möglicherweise als aus dem in Fig. 9 abgebildeten Stadium hervorgegangen zu erklären. Ebenso kann man sich die in Fig. 13, 14 abgebildeten Stadien aus dem in Fig. 11 gezeichneten Stadium entstanden denken. Die Körner, ich schlage für sie den Namen *Caryosomchondrien* vor, teilen sich darauf wieder (Fig. 14, 15). Nicht selten teilt sich auch nur eins der beiden (Fig. 14). Auch nach dieser Teilung (Fig. 15) gehen die Teilprodukte entweder auseinander (Fig. 17), oder, und das ist das Häufigere, sie bleiben zusammen (Fig. 16, 18). Darauf erfolgen weitere Teilungen der Körner (Fig. 18 bis 24). Die *Caryosomchondrien* sind nun zunächst in Häufchen an-

geordnet (Fig. 18, 19, 21). Dann erfolgt eine Auflösung dieser Häufchen zu Fäden (Fig. 20, 22, 24, 25). Die Auflösung und fadenförmige Anordnung wird immer deutlicher, dabei findet weitere Vermehrung der Caryosomchondrien statt (Fig. 24—26). Wir kommen so zu dem Stadium, das in Fig. 26 abgebildet ist. Hier ist die Auflösung zu Fäden schon vollständig eingetreten. Der helle Hof, der bisher die Caryosomchondrien umgab, verschwindet. Jetzt beginnt auch der alte Kern zu degenerieren. Das nächste Stadium stellt Fig. 27 dar. Wir finden hier eine größere Zahl von Fäden; daneben aber noch zwei Caryosomchondrien gesondert, auf deren Bedeutung ich unten noch eingehen werde. Hier ist Fig. 28 anzureihen. Der Zusammenhang zwischen den einzelnen Körnern wird gelöst, gleichzeitig beginnen sie, sich auf einen Punkt zusammenzuziehen. Ungefähr auf derselben Stufe steht das Stadium der Fig. 28a. Nun folgt Fig. 29, wo die Konzentrierung der Caryosomchondrien fortgeschritten ist. Jetzt erfolgt eine Verklumpung derselben sowie die Ausbildung eines hellen Hofes (Fig. 30). Vom alten Kern ist nur noch ein spärlicher Rest vorhanden. Der helle Hof, der den neuen Kern umgibt, wird größer. Das Caryosom rundet sich ab, und strahlt feine Fäden nach dem Plasma hin aus (Fig. 31). Eine neue Membran ist nicht zu erkennen. Damit sind die anscheinend generativen Vorgänge in der Cyste beendet.

Die Deutung der oben mitgeteilten Befunde machte in einigen Punkten Schwierigkeiten. Wie schon bemerkt, waren die Amöben nicht mit einer einzigen Bakterienart gezüchtet worden, es konnten also parasitische Micrococcen die Kulturen verunreinigen, die dann leicht zu Täuschungen Anlaß geben konnten. In der Tat fanden sich in den Kulturen Cysten, die deutlich Degeneration zeigten und im Plasma Körner enthielten, die sich mit Eisenhämatoxylin tief-schwarz färben. Zwei solcher Degenerationsstadien sind in Fig. 32 u. 33 abgebildet. Ferner finden sich in den Präparaten stets Bakterienhaufen, die große Ähnlichkeit mit den in Fig. 27 abgebildeten Caryosomchondriengruppen haben, auch in der Größe mit jenen übereinstimmen. Dazu kommt, daß in dem in Fig. 27 abgebildeten Stadium noch gesondert zwei Caryosomchondrien vorhanden sind, die man auch auf anderen Stadien wiederfindet. Da die Körnergruppen auf diesem Stadium nicht durch einen Hof vom Plasma getrennt sind, und zudem der Kern in Degeneration begriffen ist, so könnte der Schluß gezogen werden, daß es sich bei den Bildungen um parasitische Bakterien handelt. Gegen diese Annahme spricht

1. daß sich jene Körnergruppen niemals im Plasma freier Amöben fanden, außer in Nahrungsvacuolen eingeschlossen,

2. daß die Cysten keinerlei Degeneration außer der des Kernes zeigten,

3. daß die Körner in den degenerierenden Cysten niemals jene regelmäßige Anordnung zeigten. Aber auch bei jenen handelt es sich schwerlich um Bakterien, da niemals Teilungsstadien vorhanden waren. Wahrscheinlich stehen sie mit den „Mitochondrien“ in Zusammenhang. — Ferner konnte nicht festgestellt werden, ob die Abschnürung eines Chromatinbrockens vom Caryosom in der Regel nur einmal stattfindet oder ob sie zweimal erfolgt. Auch die Frage, ob eine Reduktion der Caryosomchondrien stattfindet, konnte nicht gelöst werden, da degenerierende Caryosomchondrien nicht von den Mitochondrien zu unterscheiden wären. Das Vorhandensein gesonderter Caryosomchondrien in den Stadien der Fig. 27–29 scheint dafür zu sprechen.

Es bliebe noch die Frage zu erörtern, in welchem Zusammenhange stehen die anscheinend generativen Vorgänge in den Cysten mit den Perioden der Mehrkernigkeit? Auch hier bin ich zu keinem abschließenden Resultat gelangt. Vereinzelt traten mehrkernige Amöben in den Kulturen auf, wo die generativen Vorgänge stattfanden, allein in den Kulturen, die von jenen aus angelegt waren, kamen mehrkernige Amöben vor den nächsten Encystierungen nicht vor. Ich neige daher zu der Ansicht, daß kurz nach dem Ablauf jener Vorgänge die Amöben die Cyste verlassen, eine kurze Zeit mehrkernig bleiben und dann wieder den normalen Zustand annehmen. Es ist jedoch nicht ausgeschlossen, daß beide Vorgänge in keinem direkten Zusammenhang stehen.

Endlich ist noch die Frage nach der Bedeutung der generativen Vorgänge zu erledigen. Ich halte es nicht für angebracht, weitgehende theoretische Erörterungen an das Gefundene anzuknüpfen, einerseits, da die Gruppe der Amöben in Hinsicht auf die Entwicklungsgeschichte noch zu wenig erforscht ist, andererseits, da Vergleichsobjekte aus anderen Gruppen des Protozoenreichs fast völlig fehlen.<sup>1)</sup> Soviel läßt sich jedoch jetzt schon sagen, daß es sich bei

---

<sup>1)</sup> X. FERMOR (1913) beschreibt im Zool. Anz. Bd. 47 H. 8 einen Vorgang, der dem von mir beschriebenen zu vergleichen wäre. Sie hat beobachtet, daß zu gewissen Zeiten in den Cysten von *Stylonychia pustulata* der alte Kern degeneriert, während die Micronuclei verschmelzen, anwachsen und einen neuen Macronucleus bilden, von dem wieder zwei Micronuclei abgeschnürt werden.

den beschriebenen Vorgängen um einen Renovationsprozeß des Kernes handelt, ähnlich wie wir es für das Plasma gefunden haben, und daß diese Vorgänge generativen Charakter tragen.

---

### Literaturverzeichnis.

(Es ist nur die Literatur berücksichtigt worden, die für die Arbeit unmittelbar in Betracht kam. Ausführliche Literaturangaben finden sich in den zitierten Werken.)

- FAURÉ-FREMIET, E. (1910): Etudes sur les Mitochondries des Protozoaires et des Cellules sexuelles. Archives d'Anatomie microscopique, Tome XI.
- GLÄSER, H. (1912): Untersuchungen über die Teilung einiger Amöben. Arch. f. Protistenk. Bd. 25.
- KÖLSCH, K. (1902): Untersuchungen über Zerfließungserscheinungen der ciliaten Infusorien. Zool. Jahrb. Abt. f. Anat. u. Ontogenie Bd. 16.
- KÜSTER, E. (1913): Beiträge zur entwicklungsmechanischen Anatomie der Pflanzen. Heft 1: Über Zonenbildung in kolloidalen Medien. Jena.
- NÄGLER, K. (1909): Entwicklungsgeschichtliche Studien über Amöben. Arch. f. Protistenk. Bd. 15.
- VAHLKAMPF, E. (1905): Beiträge zur Biologie und Entwicklungsgeschichte von Amoeba limax, einschließlich der Züchtung auf künstlichen Nährböden. Arch. f. Protistenk. Bd. 5.

---

### Tafelerklärung.

#### Tafel 3.

Die Figuren sind nach fixierten und gefärbten Präparaten mit dem Zeichenapparat gezeichnet, bei ZEISS homog. Imm. 2 mm und Comp. Oc. 12. Vergr. 1500.

Fig. 1. Normale Cyste. VAN GIESON-Methylenblaufärbung.

Fig. 2. Cyste mit „Mitochondrien“. Kernmembran besonders deutlich. Die Cystenhüllen sind aufgelöst. Mitochondrienfärbung nach BENDA.

Fig. 3. Cyste mit „Mitochondrien“. Die beiden „Zonen“ sind deutlich ausgebildet. Die konzentrische Anordnung der „Mitochondrien“ ist noch vollkommen erhalten. Mitochondrienfärbung nach BENDA.

Fig. 4. Cyste mit „Mitochondrien“. Die konzentrische Anordnung beginnt sich aufzulösen. E.-H.

Fig. 5—31. Generative Vorgänge. Die Fig. 5—30, 32 u. 33 entstammen einem Präparat. Färbung: Eisenhämatoxylin nach HEIDENHAIN. Beizen 36 Std., Färben 5 Tage.

Fig. 5. Cyste vor Beginn der generativen Vorgänge. „Mitochondrien“ sichtbar.

Fig. 6. Dasselbe. „Mitochondrien“ nicht sichtbar.

- Fig. 7, 8. Teilung des Caryosoms.  
Fig. 9. Bildung von drei Teilstücken.  
Fig. 10. Das kleinere Korn ist ins Plasma gewandert.  
Fig. 11. Zweite Teilung des Caryosoms, anormal?  
Fig. 12. Erste Teilung des ausgewanderten Kornes.  
Fig. 13. Trennung der Teilstücke.  
Fig. 14, 15, 16. Zweite Teilung.  
Fig. 17. Trennung der Teilstücke.  
Fig. 18—27. Weitere Teilungen der Caryosomchondrien.  
Fig. 20, 24—27. Auflösung der Häufchen zu Fäden.  
Fig. 28—29. Auflösung der Fäden zu Körnern. Konzentrierung der Körner.  
Fig. 28—31. Degeneration des alten Kerns.  
Fig. 30. Verklumpung der Körner. Bildung des hellen Hofes.  
Fig. 31. Neuer Kern. Lininfäden.  
Fig. 32, 33. Degenerationsstadien.
-

*Nachdruck verboten.  
Übersetzungsrecht vorbehalten.*

## **Les infusoires peuvent-ils apprendre à choisir leur nourriture ?**

Par

**M. S. Metalnikov.**<sup>1)</sup>

(Laboratoire biologique de St. Pétersbourg.)

J'ai publié, il y a un an un, travail concernant la digestion intracellulaire des infusoires; dans ce travail j'ai dit, entre autres, que les infusoires peuvent „apprendre“ à distinguer les matières impropres à la nourriture des matières nutritives.

Les expériences concernant ce problème, que j'ai faites depuis moi-même, ainsi que celles faites par mon élève GOLADGIEV, ont fourni une série de constatations qui confirment mes conclusions antérieures.

Les expériences ont porté principalement sur des Paramecies, microorganismes qui, comme on le sait, englobent des petits morceaux de couleur ou d'autres matières ajoutées à l'infusion de foin dans laquelle ils vivent. Ils englobent, non seulement des produits utiles et inoffensifs (carmin, charbon, encre de chine, etc.), mais aussi des matières nuisibles et même vénéneuses. J'ai essayé de les nourrir avec différents sels d'arsenic et de plomb insolubles dans l'eau.

Quelques minutes après l'addition de ces sels apparaissent déjà des vacuoles digestives, mais à mesure que les sels se dissolvent et

---

<sup>1)</sup> S. METALNIKOV: Contribution à l'étude de la digestion intracellulaire. Arch. Zool. expér. T. 9.

que le protoplasma les absorbe, les animaux commencent à périr. Les vacuoles digestives se gonflent souvent fortement, les vacuoles contractiles cessent de se contracter et l'infusoire périt 10—15 minutes après le commencement de l'expérience.

Les choses se passent autrement si l'on veut faire ingérer aux infusoires des matières moins toxiques ou tout à fait inoffensives, mais n'ayant pas de valeur nutritive. Au bout de 1 jour, parfois 3 à 5 ou plus, après l'addition de ces matières à l'infusion, les infusoires ne touchent plus la substance donnée, tandis qu'ils gardent la faculté d'englober des matières nutritives et d'autres substances.

Dans nos expériences antérieures, nous avons employé surtout le carmin, la sépia et l'aluminium (une poudre fine d'aluminium donne une très bonne émulsion).

Pour déterminer comment les infusoires se comportent vis-à-vis de la substance donnée, nous nous sommes servi de plusieurs gouttes de culture de l'infusoire auxquelles on ajoutait l'émulsion de carmin, de sépia ou d'aluminium. 30 minutes après l'addition de l'émulsion, on tuait les infusoires contenus dans une goutte de culture additionnée d'émulsion, par des vapeurs d'osmium ou par un autre moyen, on comptait ensuite la quantité de vacuoles qui s'étaient formées chez 20 infusoires. Le total était divisé par 20 et on obtenait ainsi la quantité moyenne.

Nos expériences antérieures ont déjà montré que si, vis-à-vis de l'aluminium, la réaction négative se manifeste 20 heures (et même moins) après le commencement de l'expérience, cette même réaction ne se manifeste que 2 à 3 jours après pour le carmin, et 7 à 10 jours et même plus pour la sépia. Autrement dit, 20 heures après l'addition de l'aluminium à la culture, les infusoires placés dans une émulsion fraîche d'aluminium n'englobent plus cette substance et pour provoquer une réaction analogue vis-à-vis du carmin ou de la sépia, les infusoires doivent séjourner dans une culture additionnée de carmin ou de sépia durant plusieurs jours. Ce phénomène, comme nous l'avons observé, dépend des propriétés individuelles des cultures, la réaction négative pouvant se manifester plus tôt chez les unes, plus tard chez les autres.

Il semble que, lorsqu'il s'agit de substances n'ayant aucune valeur nutritive, comme l'aluminium, la réaction négative se manifeste plus rapidement que dans le cas où on a affaire aux substances organiques (carmin, sépia) qui se rapprochent plus de la nourriture normale des infusoires.



C'est du moins pour nous l'explication plausible des phénomènes. Pour voir si notre conclusion répond à la réalité, nous avons fait une série d'expériences avec d'autres substances.

Notre première expérience a porté sur le phosphore rouge.<sup>1)</sup>

### Expérience I.

Une émulsion préparée avec une poudre fine de phosphore a été ajoutée à une culture de paramecies. 30 minutes après addition, il s'est formé la quantité suivante de vacuoles:

$$\left. \begin{array}{l} 10, 13, 16, 6, 12, 12, 13, 12, 7, 8 \\ 9, 13, 13, 10, 11, 7, 12, 12, 8, 11 \end{array} \right\} 215 : 20 = 10,7.$$

Le lendemain, c'est à dire 20 heures après le commencement de l'expérience, nous avons trouvé dans la culture deux sortes d'infusoires: les uns, qui formaient la majorité, contenaient plusieurs vacuoles de phosphore entassés au milieu du corps de l'infusoire. Ces infusoires ont été placés dans une infusion fraîche de foin et, observés sous le microscope, périrent en quelques heures car ils ne pouvaient pas se débarrasser de vacuoles contenant du phosphore. Les autres infusoires n'avaient pas de vacuoles contenant du phosphore. Placés dans une infusion fraîche de foin, additionnée d'émulsion de phosphore, ils n'ont pas touché le phosphore et sont ainsi restés vivants. Nous avons répété cette expérience plusieurs fois, toujours avec les mêmes résultats. La plupart des infusoires ont péri 20 à 30 heures après le commencement de l'expérience, une petite quantité a résisté au poison, en manifestant une réaction négative vis-à-vis du poison, et a ainsi survécu.

Nous avons fait les mêmes expériences avec le sudan, matière colorante non soluble dans l'eau et que les infusoires englobent très volontiers.

### Expérience II.

Le 20 Novembre nous avons ajouté à la culture B une émulsion d'une poudre fine de sudan. 30 minutes après, il s'est formé la quantité suivante de vacuoles:

$$\left. \begin{array}{l} 11, 14, 18, 12, 8, 13, 11, 10, 10, 13 \\ 15, 14, 11, 12, 9, 17, 13, 8, 10, 8 \end{array} \right\} 237 : 20 = 11,8.$$

<sup>1)</sup> Je me suis servi dans mes expériences d'une poudre de phosphore rouge mise à ma disposition par M. MALTCHEVSKY. Le phosphore rouge commercial ordinaire s'est montré trop toxique. Pour le purifier, il faut le traiter par CS<sup>2</sup>.

Le 21 Novembre, nous avons placé, pendant une heure, plusieurs dizaines de ces infusoires dans une infusion fraîche de foin pour que ceux qui avaient des vacuoles puissent les rejeter. Nous avons ajouté ensuite de l'émulsion fraîche de sudan. 30 minutes après, il s'est formé la quantité suivante de vacuoles:

Par 0 sont désignés les infusoires qui n'ont pas formé de vacuoles.

0, 0, 0, 0, 1, 0, 0, 0, 0, 0.  
0, 0, 1, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0.

Les mêmes infusoires auxquels on a fait ingérer pendant 30 minutes d'autres matières colorantes ont formé la quantité suivante de vacuoles:

Carmin.

9, 13, 7, 0, 6, 8, 11, 10, 6, 8 } 147 : 20 = 7,3.  
7, 7, 9, 12, 0, 3, 9, 5, 10, 7 }

Sépia.

18, 17, 13, 19, 16, 16, 17, 18, 22, 19 } 336 : 20 = 16,8.  
14, 19, 21, 18, 17, 15, 18, 16, 9, 17 }

Albumine d'Oeuf.

18, 16, 20, 17, 14, 15, 15, 12, 8, 19 } 317 : 20 = 15,8.  
17, 14, 19, 7, 18, 12, 16, 18, 19, 18 }

On voit ainsi que les infusoires qui ont refusé de manger le sudan et qui n'ont pas formé de vacuoles 30 minutes après l'addition du sudan, continuent à manger, d'une manière normale, le carmin, la sépia et de l'albumine d'oeuf.

Si l'on objectait que ces phénomènes pourraient être expliqués par les changements des conditions extérieures de l'expérience, ou par le fait que la substance a subi des transformations, on pourrait opposer le fait qu'on offrait aux infusoires toujours la même émulsion fraîche de la matière colorante dans la même infusion de foin. <sup>1)</sup>

---

<sup>1)</sup> Comme je l'ai déjà dit dans mes travaux antérieurs, le temps nécessaire pour la production de la réaction varie avec la culture. Dans une expérience avec une autre culture, nous avons obtenu des résultats un peu différents. Les infusoires ont cessé de manger le sudan 3 jours après l'addition de cette substance. Les mêmes infusoires répudiaient aussi le carmin, mais continuaient à manger la sépia.

**Expérience III.**

Le 25 Novembre, on a pris deux petits vases avec des infusoires et on y a ajouté des quantités égales de sudan. Un de ces vases a été gardé à la température ordinaire et l'autre à 25°.

Dans l'expérience à 25°, les infusoires ont formé, 30 minutes après l'addition de la matière colorante, les nombres suivants de vacuoles :

$$\left. \begin{array}{l} 11, 10, 9, 17, 14, 12, 7, 15, 9, 8 \\ 10, 8, 12, 7, 8, 12, 9, 8, 9, 14 \end{array} \right\} 209 : 20 = 10,45.$$

A la température ordinaire :

$$\left. \begin{array}{l} 9, 10, 8, 8, 11, 5, 7, 6, 9, 8 \\ 7, 5, 4, 7, 9, 7, 9, 7, 6, 8 \end{array} \right\} 141 : 20 = 7,05.$$

Le 26 Novembre :

A 25°

$$\left. \begin{array}{l} 7, 4, 8, 10, 7, 5, 0, 6, 8, 9 \\ 8, 2, 0, 4, 6, 6, 11, 9, 3, 5 \end{array} \right\} 118 : 20 = 5,9.$$

A la température ordinaire :

$$\left. \begin{array}{l} 0, 0, 2, 4, 0, 0, 3, 0, 0, 2 \\ 6, 0, 3, 1, 0, 0, 6, 0, 3, 2 \end{array} \right\} 28 : 20 = 1,4.$$

Le 28 Novembre :

A 25°

$$\left. \begin{array}{l} 9, 6, 8, 11, 5, 7, 8, 11, 8, 13 \\ 11, 13, 9, 10, 8, 12, 0, 13, 8, 12 \end{array} \right\} 182 : 20 = 9,1.$$

A 15°

$$\left. \begin{array}{l} 4, 0, 0, 3, 6, 0, 7, 0, 0, 0 \\ 3, 0, 5, 11, 0, 0, 6, 0, 0, 8 \end{array} \right\} 52 : 20 = 2,65.$$

Le 29 Novembre :

A 28°

$$\left. \begin{array}{l} 0, 2, 0, 0, 3, 0, 0, 0, 0, 0 \\ 0, 0, 0, 0, 2, 1, 0, 0, 0, 0 \end{array} \right\} 8 : 20 = 0,4.$$

A 15°

$$\left. \begin{array}{l} 0, 0, 0, 2, 0, 0, 0, 1, 0, 0, 0 \\ 0, 0, 0, 0, 1, 0, 0, 0, 0, 0, 0 \end{array} \right\} 4 : 20 = 0,2.$$

Les résultats de cette expérience montrent que la réaction négative apparaît plus tard dans le cas où les infusoires sont gardés

à une température plus élevée. On peut trouver l'explication de ce phénomène dans nos expériences antérieures<sup>1)</sup> que nous avons répétées au cours de nos travaux actuels.

Si les infusoires ont la faculté „d'apprendre“ à distinguer le carmin, la sépia, l'aluminium et les autres substances, on peut se demander combien de temps ils gardent cette propriété. S'il était permis de se servir de notre terminologie psychologique, on devrait s'exprimer de la manière suivante: Combien de temps la mémoire de l'infusoire garde-t-elle l'aversion pour l'aluminium ou le carmin?

Pour répondre à ce problème, nous avons fait l'expérience suivante.

#### Expérience IV.

Le 12 Décembre, on a ajouté à la culture B de l'émulsion de carmin.

Le 15 Décembre, lorsque les infusoires ont cessé d'englober le carmin, nous avons séparé, à l'aide d'une pipette capillaire, 10 infusoires et nous les avons placés séparément dans des verres numérotés. Les infusoires ont été placés dans une infusion fraîche de foin et mis dans une chambre humide (à 15°).

Le 16 Décembre, on a examiné ces infusoires au point de vue de la réaction vis-à-vis du carmin. On a constaté que dans un intervalle de 30 minutes aucun infusoire n'a formé de vacuoles.

Le 17 Décembre, les infusoires séparés ont été de nouveau nourris avec du carmin pendant 30 minutes; les résultats ont été les suivants:

Nos	Vacuoles
1 . . . . .	0
2 . . . . .	0
3 . . . . .	3
4 . . . . .	0
5 . . . . .	0
6 . . . . .	0
7 . . . . .	0
8 . . . . .	5
9 . . . . .	0
10 . . . . .	0

<sup>1)</sup> Arch. Zool. exper. T. IX.  
Archiv für Protistenkunde. Bd. XXXIV.

Le 18 Décembre, l'expérience a été répétée. Il faut signaler que dans 3 cas (Nos 4, 6, 9) on a constaté des divisions cellulaires:

Nos	Vacuoles
1 . . . . .	0
2 . . . . .	0
3 . . . . .	0
4 . . . . .	11—12
5 . . . . .	0
6 . . . . .	8—5
7 . . . . .	2
8 . . . . .	0
9 . . . . .	8—10
10 . . . . .	0

Le 19 Décembre, tous les infusoires se sont divisés et ont formé la quantité suivante de vacuoles:

9, 2, 8, 6, 11, 7, 9, 9, 8, 6, 0, 3, 9, 12, 6, 8, 8.

Le 20 Décembre, les infusoires se sont divisés de nouveau et ont donné encore une plus grande quantité de vacuoles. Nous voyons ainsi que les infusoires qui ont cessé de manger le carmin commencent de nouveau à l'englober après la division, mais ils l'englobent d'abord en petite quantité et ce n'est que peu à peu, après plusieurs générations, qu'ils retournent à l'état antérieur, c'est à dire qu'ils commencent à englober le carmin dans la même proportion qu'auparavant.

La division cellulaire étant plus intense à une température plus élevée, on comprend pourquoi, dans ces conditions, l'aversion pour la substance donnée se développe plus lentement dans ce cas. Et, inversement, plus la température est basse, plus la division des infusoires est lente et plus la réaction négative se produit rapidement.

En plaçant les infusoires qui refusaient d'englober le carmin ou d'autres substances à une température plus basse, nous avons réussi à retarder la division de quelques jours. On examinait tous les jours les infusoires au point de vue de la réaction vis-à-vis du carmin, c'est à dire on les plaçait dans une émulsion de carmin pendant 30 minutes, on n'observait dans ces conditions la formation de vacuoles que dans des cas isolés (une ou deux vacuoles). Mais dès qu'il y avait une division cellulaire, réaction vis-à-vis du carmin se modifiait.

En dehors de ces expériences qui confirment en général, ou complètent les résultats obtenus il y a un an, nous avons nourri les infusoires avec un mélange de deux matières colorantes différentes. On prenait, d'une part, une matière colorante vis-à-vis de laquelle les infusoires manifestent relativement vite la réaction négative; d'autre part, une matière colorante que les infusoires supportent pendant un temps assez long.

### Expérience V. Mélange de carmin et d'aluminium.

Le 25 Novembre, les infusoires de la culture C ont reçu un mélange de carmin et d'aluminium. 30 minutes après, on a compté la quantité de vacuoles.

$$\left. \begin{array}{l} 11, 12, 9, 6, 9, 10, 7, 11, 9, 9 \\ 10, 9, 12, 8, 10, 8, 11, 10, 11, 9 \end{array} \right\} 191 : 20 = 9,5.$$

On a gardé les infusoires dans ce mélange pendant un temps assez long.

Le 26 Novembre, on a placé plusieurs dizaines de ces infusoires dans une infusion fraîche, ensuite, on les a nourris de nouveau avec un mélange frais de carmin et d'aluminium et aussi avec chacune de ces substances séparément.

Carmin + aluminium.

$$\left. \begin{array}{l} 9, 4, 6, 2, 0, 8, 0, 2, 6, 2 \\ 7, 7, 11, 0, 4, 0, 3, 2, 9, 8 \end{array} \right\} 90 : 20 = 4,2$$

Carmin.

$$\left. \begin{array}{l} 8, 4, 6, 6, 10, 8, 12, 3, 5, 5 \\ 6, 7, 2, 11, 7, 5, 4, 8, 5, 3 \end{array} \right\} 125 : 20 = 6,2.$$

Aluminium.

$$\left. \begin{array}{l} 3, 0, 0, 6, 9, 8, 4, 0, 3, 6 \\ 7, 11, 0, 3, 0, 0, 2, 8, 0, 6 \end{array} \right\} 76 : 20 = 3,8.$$

Le 28 Novembre, on a répété les mêmes essais:

Carmin + aluminium.

$$\left. \begin{array}{l} 2, 4, 3, 6, 4, 5, 6, 3, 0, 2 \\ 6, 4, 4, 0, 6, 2, 3, 3, 1, 5 \end{array} \right\} 65 : 20 = 3,2.$$

Carmin.

$$\left. \begin{array}{l} 4, 7, 7, 3, 4, 6, 7, 3, 4, 8 \\ 5, 3, 2, 7, 2, 6, 4, 4, 2, 8 \end{array} \right\} 96 : 20 = 4,8.$$

## Aluminium.

$$\left. \begin{array}{l} 2, 3, 4, 2, 2, 4, 5, 0, 2, 3 \\ 1, 2, 4, 3, 2, 3, 1, 0, 2, 6 \end{array} \right\} 51 : 20 = 2,5.$$

Comme témoins on a pris les infusoires de la culture C (que l'on n'a pas nourris avec le mélange) et on les a examinés au point de vue de la réaction vis-à-vis de mêmes substances.

## Carmin + aluminium.

$$\left. \begin{array}{l} 14, 12, 16, 12, 11, 14, 11, 12, 10, 13 \\ 13, 6, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 13, 12 \end{array} \right\} 243 : 20 = 12,1.$$

## Carmin.

$$\left. \begin{array}{l} 6, 10, 14, 10, 11, 5, 9, 12, 11, 9 \\ 9, 12, 8, 10, 7, 13, 7, 6, 8, 6 \end{array} \right\} 183 : 20 = 9,1.$$

## Aluminium.

$$\left. \begin{array}{l} 13, 12, 14, 11, 13, 14, 9, 12, 10, 12 \\ 10, 10, 13, 13, 9, 12, 15, 11, 13, 12 \end{array} \right\} 238 : 20 = 11,9.$$

Le 2 Décembre on a essayé de nouveau les infusoires au point de vue de leur réaction vis-à-vis de ces substances.

## Carmin -- alumine.

$$\begin{array}{l} 0, 0, 0, 0, 0, 2, 0, 0, 0, 1. \\ 0, 1, 0, 0, 0, 1, 0, 0, 0, 0. \end{array}$$

## Carmin.

$$\begin{array}{l} 0, 1, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 10. \\ 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0. \end{array}$$

## Aluminium.

$$\begin{array}{l} 0, 0, 2, 0, 0, 4, 0, 0, 6, 0. \\ 1, 0, 0, 0, 2, 0, 0, 0, 1. \end{array}$$

On voit ainsi que les infusoires qui ont été gardés depuis le 25 Novembre dans un mélange d'aluminium et de carmin ont enfin cessé d'englober le mélange ainsi que les substances offertes séparément. Il était intéressant de constater si les infusoires engloberaient d'autres substances avec lesquelles ils ne se sont pas trouvés en contact, par exemple: la sépia ou des bactéries. Pour élucider cette question, on a transporté les infusoires dans une émulsion de sépia et du bacille Proteus, colorée avec du rouge de Congo.

## Sépia.

$$\begin{array}{l} 6, 5, 7, 14, 0, 4, 6, 7, 2, 9. \\ 9, 3, 4, 6, 6, 4, 9, 0, 8, 12. \end{array}$$

## Proteus.

$$\begin{array}{l} 13, 5, 8, 4, 6, 6, 14, 10, 5, 8. \\ 0, 3, 2, 9, 5, 6, 4, 9, 11, 2. \end{array}$$

Les essais dans lesquels la sépia et le proteus ont été mélangés avec du carmin ont donné les résultats suivants :

Sépia + carmin.

0, 0, 4, 0, 0, 3, 2, 0, 0, 8.  
0, 0, 0, 3, 0, 0, 0, 0, 2, 0.

Proteus + carmin.

0, 0, 0, 0, 1, 0, 0, 3, 0, 2.  
4, 0, 0, 0, 1, 0, 0, 6, 0, 0.

Cette expérience a été répétée plusieurs fois. Le 6 Décembre les infusoires de la culture (nourris depuis le 25 Novembre avec le mélange d'aluminium et de carmin) ont de nouveau commencé à manger le mélange, ainsi que les substances séparément.

Aluminium + carmin.

15, 11, 12, 9, 11, 12, 11, 16, 8, 13.  
10, 10, 6, 12, 11, 8, 4, 9, 10, 13.

Aluminium.

12, 18, 13, 16, 13, 11, 11, 14, 18, 9.  
12, 11, 15, 13, 14, 17, 13, 17, 12, 14.

Carmin.

10, 6, 7, 3, 10, 3, 7, 10, 8, 5.  
6, 5, 0, 4, 5, 8, 0, 4, 6, 8.

Le 8 Décembre j'ai repris l'expérience. Cette fois, les infusoires de la culture C ont de nouveau cessé de manger le mélange ainsi que le carmin et l'aluminium séparément.

Carmin + aluminium.

0, 0, 4, 0, 0, 3, 0, 0, 0, 0.  
0, 0, 0, 3, 0, 0, 1, 0, 0, 0.

Carmin.

0, 0, 0, 0, 6, 0, 0, 0, 0, 0.  
0, 0, 4, 0, 0, 1, 0, 0, 0, 0.

Aluminium.

0, 2, 0, 3, 0, 0, 0, 0, 0.  
2, 0, 0, 0, 1, 0, 0, 0, 0.

Les mêmes infusoires ont été nourris avec des bacilles Coli et de la Sépia.

B. Coli.

12, 16, 11, 18, 14, 13, 7, 12, 11, 10.  
13, 12, 16, 14, 13, 19, 11, 12, 16, 10.



**Sépia.**

12, 11, 6, 9, 3, 9, 12, 11, 9, 9.  
5, 10, 4, 6, 3, 12, 11, 5, 6, 8.

On obtient d'autres résultats si l'on ajoute à ces substances du carmin, substance pour laquelle les infusoires manifestent une aversion.

**B. coli + carmin.**

3, 6, 0, 5, 10, 3, 0, 0, 8, 0.  
1, 6, 0, 11, 2, 0, 13, 9, 0, 0.

**Sépia + carmin.**

0, 0, 6, 0, 0, 4, 0, 2, 0, 3.  
1, 0, 3, 0, 0, 2, 0, 0, 0, 0.

Dans l'expérience faite le 9 Décembre, les infusoires ont de nouveau refusé d'englober le mélange d'aluminium et de carmin, ainsi que ces substances séparément. Ils ont continué d'englober en grande quantité de la sépia, des bactéries, et l'albumine; mais dès qu'on ajoutait à ces substances du carmin, la plupart des infusoires refusaient d'englober le mélange.

**Sépia.**

12, 18, 14, 16, 11, 19, 17, 14, 21, 18.  
11, 16, 13, 17, 11, 18, 17, 15, 19, 12.

**Sépia + carmin.**

7, 0, 8, 1, 12, 0, 0, 3, 0, 0.  
0, 0, 2, 0, 0, 2, 4, 1, 0.

**Albumine.**

19, 17, 9, 13, 21, 18, 16, 11, 19, 16.  
15, 16, 14, 22, 18, 10, 17, 19, 21, 15.

**Albumine + carmin.**

6, 0, 9, 4, 0, 13, 0, 1, 4, 0.  
7, 0, 0, 3, 1, 0, 0, 6, 3, 0.

**Albumine + sépia.**

14, 12, 18, 11, 15, 17, 11, 16, 16, 19.  
12, 13, 10, 17, 14, 16, 9, 18, 11, 17.

**Expérience VI. Mélange de carmin et de sépia.**

Le 2 Décembre, les infusoires de la culture K ont été placés dans des émulsions contenant le mélange de carmin et de sépia ou ces substances séparément. 30 minutes après, on a compté le nombre des vacuoles.

Carmin + sépia.

$$\left. \begin{array}{l} 7, 11, 11, 12, 8, 10, 10, 12, 10, 4 \\ 12, 11, 14, 18, 6, 11, 13, 13, 12 \end{array} \right\} 204 : 20 = 10,2.$$

Sépia.

$$\left. \begin{array}{l} 11, 8, 13, 9, 8, 12, 13, 7, 13, 8 \\ 8, 9, 12, 9, 10, 11, 7, 10, 11, 10 \end{array} \right\} 199 : 20 = 9,9.$$

Carmin.

$$\left. \begin{array}{l} 15, 11, 13, 7, 13, 10, 9, 8, 0, 2 \\ 9, 11, 10, 6, 12, 8, 7, 9, 16, 10 \end{array} \right\} 186 : 20 = 9,3.$$

Les infusoires ont été gardés dans le mélange de sépia et de carmin pendant un temps relativement long. De temps en temps, on vérifiait comment ils se comportaient vis-à-vis du mélange, ainsi que vis-à-vis des substances du mélange prises séparément.

5 Décembre.

Carmin + sépia.

$$\left. \begin{array}{l} 7, 10, 11, 7, 8, 6, 11, 9, 6, 16 \\ 4, 15, 12, 18, 7, 11, 4, 9, 9, 15 \end{array} \right\} 195 : 20 = 9,7.$$

Sépia.

$$\left. \begin{array}{l} 18, 15, 19, 17, 10, 19, 14, 20, 14, 14 \\ 17, 16, 18, 18, 20, 13, 19, 15, 15, 14 \end{array} \right\} 325 : 20 = 16,2.$$

Carmin.

$$\left. \begin{array}{l} 0, 0, 6, 0, 8, 0, 7, 9, 0, 0 \\ 0, 5, 0, 1, 0, 2, 0, 3, 0, 0 \end{array} \right\} 41 : 20 = 2.$$

Albumine.

$$\left. \begin{array}{l} 10, 21, 18, 16, 12, 13, 15, 12, 17, 19 \\ 11, 10, 17, 16, 9, 16, 19, 11, 14, 14 \end{array} \right\} 290 : 20 = 14,5.$$

Albumine + carmin.

$$\left. \begin{array}{l} 14, 16, 10, 0, 9, 12, 10, 1, 9, 12 \\ 15, 10, 12, 11, 16, 13, 14, 1, 4, 10 \end{array} \right\} 225 : 20 = 11,2.$$

Sudan.

$$\left. \begin{array}{l} 14, 15, 12, 18, 15, 12, 11, 8, 7, 13 \\ 12, 16, 16, 14, 13, 7, 12, 11, 16, 7 \end{array} \right\} 249 : 20 = 12,4.$$

Sudan + carmin.

$$\left. \begin{array}{l} 3, 0, 0, 6, 2, 4, 0, 9, 3, 0 \\ 0, 6, 3, 0, 0, 7, 0, 0, 5, 0 \end{array} \right\} 54 : 20 = 2,7.$$

Le 8 Décembre, les infusoires nourris avec le mélange de carmin et de sépia ont été placés dans une infusion fraîche de foin pour une heure et puis nourris pendant 30 minutes avec le mélange ou d'autres substances.

**Carmin + sépia.**

0, 6, 3, 8, 0, 8, 0, 0, 0, 3.  
0, 0, 0, 2, 6, 0, 0, 0, 0, 0.

**Carmin.**

0, 0, 3, 0, 0, 0, 4, 0, 0, 0.  
1, 0, 0, 2, 0, 0, 0, 0, 1, 0.

**Sépia.**

17, 15, 12, 14, 10, 12, 13, 9, 16, 14.  
11, 12, 13, 13, 15, 16, 17, 11, 13, 8.

**Bacille coli.**

12, 16, 11, 18, 14, 17, 11, 17, 15, 12.  
9, 19, 18, 21, 16, 10, 15, 18, 11, 17.

**Bacille coli + carmin.**

12, 7, 0, 2, 0, 0, 0, 6, 9, 0.  
0, 0, 14, 0, 3, 0, 9, 0, 10, 0.

**Bacille coli + sépia.**

16, 14, 11, 13, 11, 11, 19, 18, 11, 9.  
13, 16, 10, 12, 12, 14, 9, 12, 10, 16.

**Aluminium.**

12, 9, 16, 11, 9, 0, 3, 7, 16, 14.  
11, 10, 7, 9, 13, 16, 11, 9, 13, 12.

**Aluminium + carmin.**

0, 0, 0, 6, 0, 3, 0, 12, 0, 0.  
2, 0, 0, 7, 10, 0, 0, 0, 1.

**Aluminium + sépia.**

16, 19, 15, 14, 16, 11, 17, 14, 12, 18.  
16, 15, 19, 15, 14, 18, 17, 19, 21, 16.

La série d'expériences portant sur les infusoires nourris avec un mélange de carmin et de sépia présente un intérêt particulier; les expériences ont été commencées le 2 Décembre et déjà 6 jours après (le 8 Décembre), les infusoires ont montré une réaction négative vis-à-vis du carmin, tandis qu'ils continuaient à englober la sépia en grande quantité. Les bacilles coli et l'aluminium qui ne faisait pas partie du mélange ont été englobés en grande quantité, mais dès qu'on ajoutait à ces substances un peu de carmin, les infusoires ne les englobaient presque plus. Si l'on ajoutait de la sépia au lieu du carmin, la réaction négative ne se manifestait plus.

Il est intéressant de résumer ici les résultats de nos expériences antérieures. Lorsqu'on mettait à la disposition des infusoires un mélange de deux substances, dont l'une représentait un aliment et

l'autre non (par exemple un mélange d'amidon ordinaire et d'amidon coloré avec de l'iode, ou un mélange de bactéries colorées avec une matière colorante inoffensive), les infusoires choisissaient et englobaient seulement les substances nutritives.

Les infusoires peuvent ainsi indubitablement choisir la nourriture, ce qui a été d'ailleurs aussi prouvé par A. SCHAEFFER au laboratoire de JENNINGS. Si les infusoires se comportent de cette manière, comment expliquer le fait que les infusoires qui ont élaboré une réaction négative vis-à-vis du carmin refusent d'englober diverses matières nutritives lorsqu'elles sont mélangées de carmin?

Nous avons vu que les infusoires englobent le bacille coli, la sépia et l'aluminium; mais que, dès qu'on ajoute à ces substances du carmin, l'englobement n'a plus lieu, les infusoires ne faisant ainsi emploi de leur faculté de choix. Les reflexes conditionnels nous semblent fournir l'explication de ce phénomène.

Toute nourriture est un facteur excitateur qui provoque une réaction déterminée. Si on nourrit les infusoires avec un mélange de deux substances, on fait agir sur eux deux facteurs excitateurs qu'on lie toujours ensemble et alors, bien que la réaction négative qui apparaît après un intervalle donné ne vise que le carmin, elle se manifeste aussi vis-à-vis des autres matières nutritives lorsqu'elles sont mélangées du carmin, parce que l'action excitatrice du carmin a toujours été accompagnée de cette autre substance.

En nous basant sur les expériences citées plus haut, nous pouvons tirer les conclusions suivantes:

Si les infusoires se comportent vis-à-vis de diverses substances qu'ils englobent d'une manière différente, cela dépend de la valeur nutritive de ces substances.

1. Si l'on donne aux infusoires des substances toxiques (des sels insolubles d'arsenic, du plomb), ils les englobent et périssent.

2. Si l'on leur donne des matières moins toxiques, alors les infusoires qui les ont englobées en moindre quantité et n'ont pas trop intoxiqué leur organisme, élaborent une réaction négative vis-à-vis de ces substances, ils „apprennent“ à les distinguer d'autres substances.

3. On obtient le même résultat lorsqu'on leur offre des matières inoffensives sans valeur nutritive. Au début, les infusoires englobent volontiers ces substances, mais cessent peu à peu de les manger et apprennent ainsi à distinguer ces substances des autres substances.

Comment concevoir tous les phénomènes décrits plus haut?

Si nous avons observé quelque chose de semblable chez l'homme ou chez un animal supérieur, nous aurions dit qu'il s'agit d'un apprentissage. Si nous avons vu qu'un chien ou un cheval auxquels nous avons offert au lieu de sa nourriture, ou avec sa nourriture, une substance nuisible, aient refusé ou aient cessé de manger cette substance nuisible, nous aurions certainement dit que le chien avait appris à distinguer la substance nuisible, et c'est pourquoi il a cessé de la manger. Nous aurions dit cela parce que nous croyons pour la plupart que le chien et le cheval sont doués d'une vraie vie psychique.

Peut-on affirmer la même chose en ce qui concerne les infusoires ?

Peut-on considérer cette faculté des infusoires „d'apprendre“ à distinguer la nourriture utile de la nourriture non utile comme une manifestation du psychisme, comme une manifestation de ce que nous appelons chez l'homme et chez les animaux supérieurs „l'expérience“ ou bien n'est-ce qu'une espèce d'adaptation ?

Ces questions présentent un grand intérêt.

Je veux d'abord faire remarquer qu'en désignant ces manifestations des infusoires par le terme d'„apprendre“, nous ne présumons encore rien sur l'essence de ces phénomènes. On peut attribuer au terme d'„apprendre“ des significations diverses : pour le matérialiste qui réduit tous les phénomènes de la vie psychique aux mouvements des atomes, c'est une chose ; pour le spirualiste, c'en est une autre.

Si étrange que cela puisse paraître, il faut dire que nous abordons ordinairement l'étude des faits d'un point de vue tout fait. On peut l'affirmer, non seulement en ce qui concerne les philosophes métaphysiciens, mais aussi quant aux savants qui croient se placer sur le terrain rigoureusement scientifique des faits.

En disant que les infusoires ont „appris“ à distinguer la nourriture, nous pouvons comprendre par ce terme la faculté des infusoires de se guider dans leur actions sur l'expérience précédente. Pour cela, nous devons supposer chez les infusoires la faculté de se rappeler, de comparer et même d'inférer.

On peut employer le même terme d'„apprendre“ dans un tout autre sens. Nous aurions pu, par exemple, employer ce terme en parlant d'un violon qui, après avoir servi longtemps résonne, comme on le sait, mieux qu'au début. Avec le temps, il se produit des déplacements moléculaires favorables à la résonance. Nous aurons pu dire que le violon a „appris“ à résonner à l'unisson avec les

cordes. Tout le problème se réduit ainsi à la question de savoir si, en parlant des infusoires, nous pouvons employer ce terme dans le sens psychologique, ou autrement dit, y a-t-il une vie psychique chez les infusoires?

„Pour avoir le droit de parler de psychisme et à plus forte raison de „volonté“ dit M. G. BOHN dans son livre „La naissance de l'intelligence“, il est insuffisant d'avoir reconnu que l'animal varie ses actes, il est également insuffisant d'avoir constaté qu'il a appris, qu'il a choisi“ (p. 101).

M. WACHBURN arrive aux mêmes conclusions. Il dit: „Lorsqu'on a affaire au psychisme, on observe toujours une variation des réactions. Mais il ne s'ensuit pas que dans tous les cas où il y a une variation des réactions, il y a aussi du psychisme. La variation des réactions est la condition nécessaire du psychisme, mais pas la seule condition.“

D'après LOEB, nous trouvons toujours dans tous ces phénomènes psychiques la manifestation de la mémoire associative nous trouvons toujours le lien des sensations actuelles avec le passé.

G. BOHN arrive aux mêmes conclusions: il écrit notamment: Nous conviendrons de qualifier de psychisme l'acte de varier ses actes, celui d'apprendre, celui de choisir quand il est le résultat de processus associatifs, où interviennent des sensations pallées et des sensations actuelles. La mémoire associative sera pour nous le criterium du psychisme. C'est en étudiant les phénomènes associatifs que nous pourrions établir une échelle des actes psychiques“ (p. 104).

D'après YERKES, tous les critères d'animation dont se servent les psychologues et les zoopsychologues peuvent appartenir à deux groupes; ils peuvent être morphologiques ou fonctionnels, les critères du premier groupe sont: 1. la forme générale de l'organisme; 2. la forme du système nerveux; 3. la spécialisation du système nerveux.

Ceux du deuxième groupe: 1. la forme générale de la réaction (discrimination); 2. la modifiabilité de la réaction (docilité); 3. la variabilité de la réaction (initiative).

Mais tous ces critères n'ont pour l'auteur que la signification d'une hypothèse de travail. On n'a pas encore trouvé de critères logiques plus convaincants.<sup>1)</sup>

Ainsi, en affirmant que les infusoires peuvent apprendre à choisir la nourriture, nous pouvons employer ce terme seulement

<sup>1)</sup> R. YERKES, *Animal Psychology and criteria of the Psyche*. Journ. of Philol., Psych. and Scientific t. II p. 141.

dans les limites où nous ne lui attribuons pas de signification psychologique. Mais si nous voulons dire que les infusoires sont aussi capables de choisir la nourriture que l'homme, nous devons d'abord prouver que les infusoires ont une vie psychique. Nous aurions pu le faire si nous avions eu des critères incontestables du psychisme.

Ces critères existent-ils? Pouvons-nous considérer comme critère la mémoire associative à laquelle ont recours LOEB et d'autres zoopsychologues.

Le problème du psychisme et de critère du psychisme est un des problèmes les plus difficiles de la philosophie. La difficulté de ce problème consiste en ceci que nous ne pouvons pas observer directement des processus psychologiques, non seulement chez les animaux, mais même chez l'homme. Nous n'observons et ne connaissons que nos propres états psychiques. La connaissance de la vie psychique d'autrui a lieu par voie indirecte. Le raisonnement se fait de la manière suivante. Mon corps est animé, c'est à dire il a des propriétés psychiques.

L'autre corps ressemble par son activité à mon corps par conséquent, l'autre corps est probablement aussi animé.

Peut-on transformer cette déduction probable en une déduction certaine? Voilà le problème qu'il faut résoudre avant de parler du psychisme de nos semblables et des animaux? M. VVEDENSKY qui a consacré à ce problème une étude spéciale<sup>1)</sup> nie cette possibilité.

M. VVEDENSKY examine une série d'arguments par lesquels on prouve ordinairement l'animation d'autrui et montre qu'ils sont insoutenables.

„Quant à l'objectivité des observations des phénomènes psychiques, leur signification et leur possibilité ont déjà été discutées par des psychologues et il nous suffit de mentionner leurs conclusions. La vie psychique d'autrui ne pouvant pas être observée ni représentée, toute soi-disant observation d'un phénomène psychique d'autrui consiste en ceci que d'après les phénomènes corporels que j'observe chez une autre personne, je construis, en me servant des éléments de ma propre vie psychique, le tableau de ce que j'aurais vécu moi-même à la place de l'autre“ (p. 59).

L'activité de notre connaissance est organisée de telle manière qu'elle donne la possibilité à chacun de nous de nier l'existence de la vie psychique chez tous, excepté nous-même, en d'autre termes,

<sup>1)</sup> VVEDENSKY, Sur les limites et les caractères de l'animation. (O predelakh ipriznakakh odouchévléniiia, St. Petersbourg 1892.)

elle n'admet pas l'existence des phénomènes corporels qui pourraient être considérés comme des caractères objectifs de l'animation. Cela veut dire que toute vie psychique est soumise à la loi de l'absence des caractères objectifs de l'animation.

Sans entrer en contradiction avec les données de l'expérience, et sans crainte d'être réfuté théoriquement, je peux non seulement nier partout la vie psychique, mais aussi l'admettre partout; en d'autres mots, les problèmes des limites de l'animation appartient aux problèmes qui ne peuvent pas être résolus théoriquement.

Les corps animés ainsi que les corps non animés appartiennent ainsi, en ce qui concerne notre observation, aux phénomènes du même ordre. Les uns comme les autres ne trahissent pas leur animation.

Nous pouvons ainsi supposer partout des phénomènes psychiques et personne ne pourra nous réfuter; nous pouvons ainsi sans contredire les données de l'expérience admettre l'animation, non seulement de tous les animaux, mais de chaque partie isolée d'un animal quelconque. Nous pouvons admettre que les plantes, les atomes sont animés, nous pouvons supposer une âme universelle, etc.

Si au point de vue théorique, il nous est permis de considérer chaque corps comme animé ou comme non animé, nous avons évidemment le droit de nous servir dans chaque cas isolé du point de vue, à l'aide duquel il nous est plus commode d'examiner les résultats de nos expériences.

Nous avons le droit de nier la vie psychique chez tous nos semblables, chez les personnes historiques, mais à quoi cela peut-il servir? D'autre part, nous pouvons admettre l'animation des plantes et des atomes, mais un tel point de vue fera seulement plus difficile l'étude et la compréhension de beaucoup de phénomènes."

M. VVEDENSKY propose de se servir de chacun des points de vue comme d'un principe régulateur, c'est à dire d'un moyen auxiliaire utile pour les recherches sans lui attribuer de signification au point de vue de certitude théorique.

En se plaçant à ce point de vue d'après lequel l'existence des états psychiques ne peut pas être prouvée, nous avons également le droit de parler du psychisme des infusoires, ainsi que du psychisme de tout autre animal, ou de l'homme. Nous avons le même droit de dire que les infusoires ont appris à distinguer la nourriture, comme nous le faisons par rapport à tout animal dans les cas où nous observons des phénomènes analogues à ceux que nous avons étudiés chez les infusoires.



„Mais nous ne pouvons pas nous défaire comme l'indique avec raison VVEDENSKY, de la conviction de l'existence de la vie psychique d'autrui.

Cette conviction forme à nos yeux une vérité irréfutable. Cette conviction pénètre et conditionne toute ma vie. Peut-on l'expliquer par la seule habitude? Peut-on admettre que la vie psychique d'autrui s'est associée d'une manière inséparable aux autres idées et que c'est seulement à cause de cela qu'elle hante d'une manière inévitable mon esprit?“

M. VVEDENSKY suppose que notre être possède, en dehors des sens à l'aide desquels nous percevons les données de l'expérience et de l'esprit qui juge sur les données de ces sens, encore quelque chose, c'est justement ce quelque chose qui nous fait luire un domaine qui reste caché à notre sens empirique et à notre esprit.

M. VVEDENSKY l'appelle sens métaphysique. Il est possible que ce soit l'intuition.

L'existence d'un moyen spécial de connaissance qui se distingue par son caractère métaphysique-voilà la conclusion à laquelle arrive inévitablement chacun qui reconnaît la loi de l'absence des caractères objectifs de l'animation et qui considère en même temps comme une vérité incontestable l'animation de nos semblables et des animaux.

---

Nachdruck verboten.  
Übersetzungerecht vorbehalten.

## Contributions à l'étude des Flagellates. I.

1. Stades amiboïdes et palmellaires chez *Mallomonas mirabilis* n. sp., avec un court aperçu sur la multiplication des Chrysomonadines.
2. *Mallomonas calva* MASSART n. sp.

Par

**Walter Conrad,**

Docteur en sciences naturelles.

(Avec Planche 4.)

---

### 1. Stades amiboïdes et palmellaires chez *Mallomonas mirabilis* n. sp., avec un court aperçu sur la multiplication des Chrysomonadines.

Dans une pêche effectuée le 26 octobre dernier<sup>1)</sup> dans le „Vieil Escaut“ à Bornhem, nous avons rencontré des quantités extraordinaires d'un *Mallomonas* non encore décrit et sur lequel il nous a été donné d'observer la division, ainsi que la formation de stades rhizopodiaux ou amiboïdes et de stades palmella.

L'eau était très peu transparente, et ce phénomène était dû à la grande quantité de notre *Mallomonas* et peut-être surtout à la présence d'une abondante fleur d'eau produite par l'*Aphanizomenon flos aquae* (L.) RALFS. Le filet à plankton, traîné à une certaine distance derrière la barquette dont nous disposions, et à une profondeur d'environ 30 à 50 centimètres, ne se distinguait plus du tout.

---

<sup>1)</sup> Cette pêche fut effectuée par mon ami E. FRISON, que je remercie sincèrement.

Trois jours après, nous avons effectué nous-même une nouvelle pêche, dans le but de nous procurer du nouveau matériel vivant. La quantité de *Mallomonas* semblait avoir augmenté encore; le liquide récolté était franchement brunâtre sous la couche superficielle bleu-verdâtre des Cyanophycées.

Le matériel fut transporté au laboratoire dans de grands bocaux à large goulot ouvert, et dans une grande quantité de liquide; là il fut concentré à l'aide de tamis en soie à bluter, et étudié immédiatement sur le vif. Une certaine partie du matériel fut fixée suivant différentes méthodes. Le fixateur qui nous a donné les meilleurs résultats ici était l'acide osmique à 1%. Le contenu cellulaire ainsi que les aiguilles étaient admirablement conservés. — L'iode ioduré et l'acide chromoacétique donnent de très bons résultats, à condition de ne laisser agir le premier que pendant  $\frac{1}{4}$  d'heure, le second, pendant  $\frac{1}{2}$  heure.

Nous avons essayé le liquide suivant: alcool absolu, 100; acide acétique glacial, 10; solution saturée aqueuse d'acide picrique, 100; solution aqueuse forte de nigrosine, environ 1 ccm; que nous avons laissé agir pendant  $\frac{1}{2}$  heure; les flagellates étaient fort bien conservés, après lavage dans l'alcool faible.

### Description.

Notre *Mallomonas* est ovoïde, allongé et souvent légèrement pyriforme. L'extrémité antérieure est arrondie, tandis que la postérieure est parfois atténuée, ou même étirée en une „queue“ d'une certaine longueur, pouvant atteindre les  $\frac{2}{3}$  environ du reste de la cellule. L'organisme est entouré d'une carapace composée de disques sphériques silicifiés, qui s'imbriquent à la manière des tuiles d'un toit, en formant des bandes transversales parallèles. Le diamètre de ces paillettes est de  $5 \mu$ ; il est très constant; ils se voient admirablement sur du matériel observé à sec sur la lame, ou sur les carapaces vides.

L'organisme, vu par le pôle supérieur, présente l'aspect que montre notre figure 1.

L'enveloppe n'est bleuie ni par l'iode sulfurique, ni par le chlorure de zinc iodé, ni par l'acide phosphorique iodé; elle présente peu d'électivité pour les matières colorantes. Le vert de méthyle acétique la colore assez faiblement; le rouge de ruthénium la fait apparaître en rose très pâle; mais les plus belles colorations sont obtenues par la safranine et le violet de gentiane (les deux en solution aqueuse),

et le rouge de magdala (en solution alcoolique). Les deux premiers réactifs ont déjà été employés par LEMMERMANN (9, p. 428). Ces trois colorants donnent de fort belles préparations de la carapace et des épines dont elle est munie.

Notre organisme porte des aiguilles silicifiées très nombreuses et très longues; elles sont insérées plus ou moins régulièrement sur la carapace, et il est très probable que chacun des petits disques dont elle se compose, soit armé d'une épine. Elles présentent une disposition radiaire, mais à partir de la moitié postérieure, elles ont une certaine tendance à se diriger vers l'arrière du corps; les épines basales sont plus longues que les autres.

Ces aiguilles mesurent 40—50  $\mu$  de longueur; elles sont droites, raides, et assez minces; elles s'étudient admirablement à sec, ou après coloration par un des réactifs susnommés. Dans ces conditions nous avons pu nous assurer qu'elles sont absolument lisses, c. à d. ni dentées, ni fourchues à leur extrémité.

L'insertion du fouet n'est pas entourée d'une couronne de petits dards, comme c'est le cas, notamment, chez les espèces *M. elegans* LEMM., et *M. coronata* BOLOCH. Aucune des très nombreuses cellules observées ne faisait exception à la règle.

Le fouet unique mesure environ la longueur du corps; on s'en rend aisément compte sur des cellules fixées par l'iode ioduré, qui le conserve admirablement et le colore en jaune, ainsi que dans des préparations traitées par le violet de gentiane, ou la fuchsine phéniquée de ZIEHL. Le battement du fouet est relativement lent; il décrit des ondulations et des boucles représentées dans notre figure 2.

Chaque cellule porte deux chromatophores latéraux, d'un beau jaune verdâtre; dans notre pêche la teinte verte dominait fortement sur la teinte dorée caractéristique. C'est un phénomène que différents auteurs ont déjà signalé chez les Chrysomonadines; dans les eaux riches en matières organiques ou en acides humiques, la couleur jaune-brunâtre des plastides prend une teinte franchement verte; c'est ce que divers auteurs ont déjà signalé chez *Mallomonas*, *Dinobryon*, *Synura*, etc.

Les chromatophores sont bien développés et tapissent presque tout l'intérieur de la cuticule de la cellule; leurs bords sont généralement très rapprochés. Vers l'arrière du corps ils enveloppent une grande masse globuleuse de leucosine; voir figure 2.

La figure 1 montre la disposition des chromatophores si l'on observe la cellule par le pôle apical.

A l'arrière du corps sont situées plusieurs vacuoles pulsatiles; STEIN (19) n'en a signalé qu'une chez les *Mallomonas*, mais KLEBS (7) déjà, entre autres, infirme ces dires et établit plusieurs vacuoles.

Nous avons toujours, sans exception, observé 4—6 vacuoles contractiles, généralement 4—5. Elles sont grandes et fonctionnent l'une après l'autre, dans le même ordre, très régulièrement.

Le noyau est situé dans la partie antérieure de la cellule toujours près du tiers antérieur. C'est un corps subglobuleux, légèrement allongé, à structure granuleuse, portant en son centre un gros nucléole bien visible. Nous nous sommes proposé d'en étudier la structure et la division d'une façon détaillée. — Le noyau se remarque déjà sur les cellules vivantes, mais il apparaît magnifiquement coloré par l'emploi de la safranine, du rouge de ruthénium, du rouge de magdala, et de l'hématoxyline. Il mesure en moyenne 5—6  $\mu$  de diamètre, mais on en rencontre parfois mesurant jusqu'à 7  $\mu$ .

Nous avons rencontré de nombreux individus en voie de division, ou venant de se diviser; un des aspects les plus fréquents est celui donné par notre figure 2. Les noyaux sont situés l'un à côté de l'autre, dans le sens transversal; la segmentation est donc nettement longitudinale; nous en reparlerons plus loin.

L'extrémité basale de la cellule est occupée par une grosse masse brillante de leucosine; elle peut occuper toute la moitié (postérieure) du corps. V. figure 2.

La cellule porte encore un assez grand nombre de très petites gouttelettes d'huile, qui se colorent en brun-noir par les vapeurs de  $\text{OsO}_4$ , et en rouge brillant par le Soudan III en solution dans l'alcool absolu.

Dans aucun des cas observés nous n'avons vu de stigma. La longueur de l'organisme varie entre 45 et 65  $\mu$ ; la largeur, entre 22 et 33  $\mu$ , mais ces deux dimensions sont assez variables.

### La division du *Mallomonas mirabilis*.

Le peu que nous savons du développement des Chrysomonadines, nous le devons aux recherches de KLEBS, LEMMERMANN, SCHERFFEL, IWANOFF<sup>1)</sup> et PASCHER.

Nous ne connaissons à peu près rien de la multiplication du genre *Mallomonas*. KLEBS (7, p. 418) dit, dans ses Flagellatenstudien,

<sup>1)</sup> Beitrag zur Kenntnis der Morphologie und Systematik der Chrysomonaden. Bull. Acad. impér. des Sc. de Pétersbourg; série V; t. XI; No. 4.

que la division n'a pas encore été observée; SENN (18, p. 158) croit qu'elle pourrait bien se faire longitudinalement. LEMMERMANN (9, p. 429) est du même avis que SENN. Il a vu, à plusieurs reprises, des cellules portant deux noyaux l'un à côté de l'autre, et quatre chromatophores; il en déduit que la division est probablement longitudinale. — PASCHER (14, p. 34) déclare que la multiplication est très incomplètement connue, et suppose qu'il y a soit division longitudinale, soit bourgeonnement, soit ces deux modes de division à la fois.

Les résultats de nos observations sur le *Mallomonas mirabilis* viennent confirmer l'idée de LEMMERMANN. En effet, nous avons vu, un assez grand nombre de fois, des cellules portant au lieu de deux: quatre chromatophores, dont la largeur est sensiblement inférieure à ceux des cellules non en voie de division. Nous avons observé toujours en même temps le dédoublement du noyau; les deux nouveaux noyaux, comme l'indique notre figure 2, sont situés l'un à côté de l'autre, dans le sens de l'axe transversal.

J'ai étudié un très grand nombre de cellules fixées par l'acide osmique, l'acide chromoacétique, ou le mélange d'alcool, sublimé et acide acétique, et colorées ensuite par le rouge de magdala ou l'hématoxyline. Ainsi nous avons pu observer différents stades de division. Celle-ci commence toujours par le dédoublement des plastides, le noyau ne se divisant qu'ensuite. Jamais ne s'est présenté l'inverse. C'est d'ailleurs le cas habituel chez les Chrysomonadines; cf. encore la suite de ce paragraphe.

Nous n'avons malheureusement aucune indication sur le stade ultime de la division. Un des produits quitte-t-il la carapace sous forme d'une cellule nue, flagellée, comme c'est le cas observé chez *Dinobryon*, *Synura*, et d'autres Chrysomonadines? Nous n'en savons rien encore. Nous n'avons non plus pu étudier la division du fouet.

La division, chez les Chrysomonadines, semble être toujours longitudinale. Jusqu'à présent elle a été observée chez une vingtaine d'espèces:

- Chromulina hokeana* PASCHER, *C. mikroplankton* PASCHER,
- C. pseudonebulosa* PASCHER, *C. nebulosa* CIENK., *C. flavicans* KLEBS;
- Pyramidochrysis* PASCHER;
- Chrysococcus rufescens* KLEBS;
- Pedinella* WYSSOTZKI;
- Cyrtophora pedicellata* PASCHER;

*Syncrypta volvox* EHRBG.;  
*Derepyxis amphora* STOKES, *D. ollula* STOKES;  
*Hymenomonas roseola* STEIN;  
*Synura wella* EHRBG.;  
*Ochromonas sociata* PASCHER, *O. mutabilis* KLEBS, *O. triangulata* WYSOTZKI;  
*Uroglenopsis* LEMM.;  
*Uroglena volvox* EHRBG.

Chez les Chrysomonadines armées d'une coque, il est probable que l'un des produits de la division quitte toujours l'enveloppe sous la forme d'une cellule nue, flagellée, et s'en reforme une nouvelle ensuite. Cette néoformation n'a été observée, je pense, que par KLEBS (7, p. 402, 413) chez *Chrysococcus rufescens*.

Chez *Pedinella hexacostata* WYSOTZKI s'observe la division longitudinale du long pédicelle et du long fouet; les deux nouvelles cellules restent encore réunies pendant un certain temps par un mince filet de protoplasme, qui se rompt finalement (23).

Chez *Pyramidochrysis* PASCHER (10), *Ochromonas sociata* PASCHER, *Chrysopsis* PASCHER, *Chromulina hokeana* PASCHER (12) la division longitudinale se produit sans que les cellules entrent en repos, mais ici les produits de la division restent inclus, pendant un certain temps, dans une gelée commune. Cela pourrait amener la constitution de colonies temporaires ou durables (11).

La division transversale n'a pas encore été démontrée pour les Chrysomonadines. D'après STEIN (19) elle serait oblique chez *Epipyxis* et *Chrysallis*; BOLOCHONZEW (1) décrit chez *Stylopyxis* la division transversale, droite; une des cellules-filles s'en va nager au loin sous forme d'un flagellate ressemblant à un *Ochromonas*.

STEIN (19) et WILLE (20) disent avoir vu une segmentation oblique chez *Dinobryon utriculus* (EHRBG.) KLEBS.

Toutes ces données sont encore assez incertaines; elles demandent à être réétudiées avec toute l'attention qu'elles méritent.

Il est encore intéressant de citer les observations de BÜTSCHLI (2), PELLETAN (15) et KLEBS (7, p. 402) d'après lesquelles la division des noyaux, chez le *Dinobryon undulatum*, ne serait pas précédée par le dédoublement des chromatophores. Après la division chaque nouvel individu ne posséderait qu'une seule plastide, qui ne se diviserait que plus tard.

### La formation de zoospores.

Les zoospores n'ont été observées sûrement que chez les espèces suivantes :

*Chromulina spectabilis* SCHERFFEL (17, p. 324, pl. 16, fig. 28—33);  
*Lepochromulina calyx* SCHERFFEL (ibid., p. 318, pl. 16, fig. 26, 27);  
*Derepyxis dispar* (STOKES) SENN;  
*Synura wella* EHRBG. (PASCHER, 13);  
*Chrysocapsa paludosa* PASCHER (14, p. 85).

Les zoospores du *Chromulina spectabilis* ont la forme d'une pyramide quadrangulaire tronquée; la partie large représente le pôle antérieur, et montre quatre côtes arrondies et saillantes. Il y a 1—2 stigma.

Chez *Lepochromulina calyx* la zoospore est légèrement métabolique et ne présente pas de stigma.

Dans son beau travail 13, PASCHER décrit la zoosporulation du *Synura wella*; ici les zoospores sont elliptiques, arrondies, parfois ovoïdes, et nettement métaboliques. Comparées avec les cellules armées dont elles viennent de naître, ces zoospores montrent une simplification intéressante du système vacuolaire. Pas de stigma. Le fouet peut être „digéré“ et la cellule passe au stade amiboïde ou rhizopodial. J'ai observé (4) les zoospores du *Synura wella* presque en même temps que PASCHER, mais n'ai vu ni leur mise en liberté, ni leur développement ultérieur.

Quant à notre *Mallomonas mirabilis*, je ne pus pas observer la formation de zoospores, ce qui ne signifie naturellement pas, que cet organisme soit incapable de se multiplier par ce processus.

### Stades amiboïdes chez *Mallomonas mirabilis*.

En observant notre flagellate, nous avons été frappé par le grand nombre de cellules qui présentaient, à leur extrémité postérieure, une sorte de hernie protoplasmique.

Ces cellules furent soumises à un examen minutieux; c'est ainsi qu'il me fut possible d'assister, chez une quarantaine de cellules, à la formation de stades amiboïdes. Chaque cellule fut examinée pendant un temps très long parfois.

Le protoplasme se détachait, parfois lentement, parfois brusquement, de la partie antérieure de l'enveloppe siliciifiée; l'extrémité basale de celle-ci se déchirait irrégulièrement; à travers l'ouverture béante, le reste de la cellule s'écoulait dans la hernie qui s'agrandissait



tout en émettant des pseudopodes arrondis, courts. Finalement la cellule amiboïde était complètement libérée, et il ne restait que la coque vide.

Les deux larges chromatophores ont souvent beaucoup de difficultés à passer par l'orifice relativement étroit de la carapace; aussi sont-ils parfois comprimés, tordus, déformés pendant leur passage.

Chez *Synura uvella*, PASCHER (13, p. 159) observa la même sortie difficile de la cellule, et vit dans certaines coques vides des morceaux arrachés de protoplasme et de chromatophores.

Les stades amiboïdes de notre *Mallomonas* sont très métaboliques; ils émettent continuellement des pseudopodes arrondis (v. fig. 4) et rampent lentement dans le milieu. Dans quelques cas tout à fait isolés, j'ai pu observer la formation de pseudopodes très fins, filiformes, parfois ramifiés, comme le montre la figure 5.

Dans les cellules amiboïdes, les plastides apparaissent un peu déformées, irrégulières; le gros noyau se voit très bien; les quatre à six vacuoles pulsatiles fonctionnent continuellement, tout en étant déplacées par le courant protoplasmique.

L'alimentation est à la fois holophytique et vacuolaire. Dans deux cas j'ai pu observer des *Mallomonas* portant des chlorelles dans des vacuoles alimentaires.

Les formes rhizopodiales du *Mallomonas mirabilis* ne possèdent ni stigma ni fouet. Celui-ci se perd-il de la même façon que chez *Synura* (PASCHER, 13)? Nous ne le savons pas.

\* \* \*

J'ai la conviction que LEMMERMANN a vu le tout premier stade de la formation de cellules rhizopodiales, chez un *Mallomonas*, lorsqu'il dit (9, p. 429): „Doch habe ich auch Stadien beobachtet, die lebhaft an die jüngst von LAUTERBORN bei *Palatinella* konstatierte Knospung erinnern. Am Hinterende der Zelle wölbt sich der Protoplast unter Sprengung der Hülle nach außen, so daß schließlich ein längliches oder ovales, gelbbraun gefärbtes Gebilde der Zelle anhängt. Ob es sich später als junge Zelle löst, oder ob es sich nur um anormale Erscheinungen handelt, vermag ich leider nicht anzugeben.“

D'après moi, le phénomène décrit par LEMMERMANN comme étant du bourgeonnement, n'a rien de commun avec ce processus tout à fait exceptionnel de multiplication chez les Chrysomonadines, mais représente simplement le commencement de la mise en liberté de

cellules amiboïdes, c. à. d. la sortie de la „hernie“ protoplasmique; celle-ci, en effet, au moment où elle vient de se produire, présente un aspect plus ou moins défini, arrondi; ce n'est que quelques instants après que se montre la métabolie de la cellule mise en liberté.

Quoi qu'il en soit, il est très difficile de discuter plus longuement ce point, car les observations de LEMMERMANN sont assez superficielles à ce sujet.

\* \* \*

Les travaux de SCHERFFEL, LAUTERBORN, PASCHER se sont occupé depuis tout un temps déjà de ces stades amiboïdes et rhizopodiaux chez les Chrysomonadines.

La forme la plus anciennement connue est *Chrysamoeba* KLEBS, que KLEBS (7, p. 406) et SCHERFFEL (16) ont décrite.

*Chromulina nebulosa* CIENK. aussi peut passer à l'état amiboïde.

Chez *Synura uella* EHRBG., PASCHER (13) démontre la formation de zoospores, de cellules rhizopodiales et de palmelles. Le contenu cellulaire s'échappe sous la forme d'une cellule nue, flagellée (= zoospore), ou bien d'une cellule rhizopodiale; il arrive aussi que les zoospores libérées „digèrent“ leurs fouets et se transforment en amibes. Le stade amibe et le stade zoospore peuvent tous deux passer à l'état palmellaire.

Chez *Chrysopyxis* STEIN, le *C. cyathus* PASCHER se distingue des autres espèces par l'absence de pseudopodes et la possession d'un fouet (PASCHER, 14); il s'en suit évidemment un mode différent d'alimentation pour ces deux groupes d'espèces.

Nous connaissons, en ce moment, plusieurs Chrysomonadines qui n'ont jamais été observées qu'à l'état rhizopodial. Leur développement est encore très incomplètement connu. PASCHER (13 et 14) les réunit dans le groupe provisoire des *Rhynchrysidinae*, qui contient des genres tels que *Rhynchrysis* PASCHER, *Chrysostephanosphaera* SCHERFFEL, *Chrysidiastrum* LAUTERBORN, etc.

### Stades palmellaires chez le *Mallomonas mirabilis*.

J'ai observé cinq ou six fois des cellules amiboïdes de *Mallomonas mirabilis* nob. dont la métabolie était devenue très faible; bientôt l'organisme s'arrondissait de plus en plus, et finissait par constituer une cellule parfaitement sphérique, s'entourant d'une couche périphérique de gelée.

J'ai placé plusieurs stades amiboïdes, parmi lesquels aucune palmelle, dans une chambre humide, en vue de l'observation en goutte suspendue; le lendemain je trouvai quatre stades palmellaires bien typiques.

La couche périphérique de gelée se voit très nettement si l'on observe les cellules dans l'encre de Chine, ou bien après coloration légère par le brun de Bismarck ou le violet de gentiane.

Comme on le voit par notre figure 6, les stades palmellaires du *Mallomonas mirabilis* sont parfaitement sphériques; la cellule porte deux chromatophores arrondis en calottes, et de nombreuses gouttelettes d'huile. Le diamètre des palmelles, sans la couche de gelée, est de 17—18  $\mu$ .

Chez ces cellules palmellaires on pouvait encore distinguer nettement le noyau et les vacuoles contractiles; je ne pus voir le développement ultérieur, car l'organisme vint bientôt à disparaître.

\* \* \*

Les stades palmellaires n'ont été vus, jusqu'à ce moment, que chez cinq ou six Chrysomonadines, notamment chez

*Chromulina rosanoffii* (Woron.) BÜTSCHLI, par WORONIN (22)  
et KLEBS (7, p. 410);

*C. mucicola* LAUTERBORN;

*C. nebulosa* CIENK.;

*Ochromonas mutabilis* KLEBS, par PASCHER (12, p. 49);

*Synura uvella* EHRBG., par PASCHER (13, p. 171).

PASCHER a étudié en détail ces phénomènes intéressants, et dit à ce sujet (13, p. 174): „Es ist sehr wahrscheinlich, daß Palmellastadien bei einzelnen Chrysomonaden nur fakultativ auftreten, als Reaktion auf bestimmte Ursachen, daß aber diese anderen auch die derzeitige ontogenetische Abschlußform, die normale Lebensform, darstellen, und sie nur zu Zwecken der Propagation zu den Schwärmstadien zurückkehren, ähnlich wie es bei den Tetrasporalen der Fall ist.“

Ces Chrysomonadines donc, dont l'état normal est représenté par le stade palmellaire, PASCHER (13, 14) en fait le groupe des *Chrysocapsinae* qu'il subdivise en *Chrysocapsaceae* (agrégats informes avec croissance généralisée), et en *Hydruraceae* (agrégats définis avec croissance apicale spécialisée).

### Le bourgeonnement chez les Chrysomonadines.

D'après toute probabilité, le bourgeonnement ne se rencontre, chez les Chrysomonadines, que dans des cas tout à fait isolés.

WYSSOTZKI le décrit chez son *Ochromonas triangulata* (22, p. 2, pl. I, fig. 1—11), mais, comme l'a déjà fait remarquer LEMMERMANN (9, p. 448), ce point demande à être vérifié avec soin.

Nous avons déjà vu plus haut que le phénomène que LEMMERMANN a observé chez un *Mallomonas*, et qu'il considère comme du bourgeonnement, pourrait très bien n'avoir été que le tout premier stade de la formation de cellules amiboïdes.

Quant à notre *Mallomonas mirabilis*, nous n'y avons jamais observé de bourgeonnement.

Ce mode de division n'a été observé sûrement que dans un unique cas, à savoir chez *Palatinella cyrtophora* LAUTERB. (8, p. 423). Cette curieuse Cyrtophoracée est attachée à l'intérieur, et à la partie antérieure, d'une grande coque affectant la forme d'un cornet; la partie apicale de l'organisme porte 16—20 „tentacules“ dont l'ensemble forme une nasse. En vue de la multiplication il se forme de nombreux bourgeons, l'un à la suite de l'autre, dans l'espace compris entre les „tentacules“ disposés en cercle.

### Les spores du *Mallomonas mirabilis*.

Dans la même récolte de Bornhem se rencontraient de nombreuses spores du *Mallomonas mirabilis*. Les unes étaient complètement libres, les autres étaient encore renfermées dans la carapace fortement distendue de la cellule-mère, comme le montre notre figure 7.

La formation de la spore est endogène, comme c'est d'ailleurs le cas général chez les Chrysomonadines. Les spores sont sphériques; leur membrane est silicifiée, résistante, quoique relativement peu épaisse; elle est imprégnée d'oxyde de fer, qui lui communique une coloration brunâtre. Le pore, avec son „bouchon“ de silice, est toujours dirigé vers l'arrière de la carapace de l'ancienne cellule-mère; v. fig. 7. La spore renferme une grosse masse de leucosine et de très nombreuses gouttelettes d'huile. Son diamètre vaut 23—28  $\mu$ .

Dans plusieurs cas j'ai observé, sur des spores fixées et colorées ensuite par l'hématoxyline, la bipartition très nette du noyau; nous n'avons pas de données sur le développement ultérieur de la spore.

\* \* \*

BÜTSCHLI (2) et STEIN (19) ont vu, les premiers, les spores de Chryomonadines, notamment chez *Dinobryon*, *Mallomonas* et *Synura*. — Elles sont connues chez une vingtaine d'espèces, mais leur développement même n'a été observé que dans des cas isolés, à savoir chez certaines espèces de *Chromulina*, par CIENKOWSKY (3), chez *Chr. woroniana*, par FISCH (15) et par KLEBS (7, p. 404 et 413) dans des cultures de *Dinobryon*.

WORONIN (22) et WILLE (20 et 21) ont remarqué les zoospores issues des spores de *Chromulina rosanoffii*, mais n'ont pas vu le phénomène même de leur mise en liberté. Ce dernier auteur paraît avoir observé également les stades palmellaires de cet organisme.

La mise en liberté du contenu cellulaire de la spore n'a été observé qu'une seule fois, par WYSSOTZKI (23), chez son *Ochromonas triangulata*.

## 2. *Mallomonas calva* MASSART, n. sp.

Cellules ovoïdes, à extrémité antérieure arrondie, à extrémité postérieure plus ou moins pointue.

La carapace est appliquée étroitement contre la cuticule de la cellule; elle est couverte, sur toute sa surface, sauf à sa portion tout à fait apicale, d'aiguilles excessivement courtes, dont la longueur ne dépasse jamais  $1\frac{1}{2} \mu$ ; elles sont toutes dirigées en arrière; elles sont silicifiées et ne se voient qu'à sec, ou sur du matériel coloré par le violet de gentiane ou le rouge de magdala.

Ce qui est encore remarquable, c'est que la carapace ne montre pas de réseau, c. à d. qu'elle ne se compose pas d'écailles, mais bien d'anneaux imbriqués les uns par rapport aux autres de façon à former des bandes parallèles entre elles, et perpendiculaires au grand axe de la cellule.

L'organisme porte deux chromatophores d'un beau jaune d'or; ils sont pariétaux et bien développés. Dans la moitié antérieure se trouve localisé un noyau volumineux, subglobuleux, à nucléole central sphérique très net. La partie postérieure est généralement occupée par une grosse masse de leucosine, qui peut arriver à occuper toute la moitié (postérieure) de l'organisme. A l'arrière du corps sont également situées trois vacuoles contractiles. Dans les nombreux individus observés il n'y avait jamais plus de trois vacuoles.

La longueur du fouet vaut 1 à  $1\frac{1}{2}$  fois la longueur du corps. — Pas de stigma.

Nous n'avons pas observé de spores, ni de division. Dimensions moyennes:  $21 \times 10 \mu$ . Ces dimensions nous ont frappé par leur constance.

\*            \*            \*

Nous avons trouvé cette curieuse espèce, lors de notre séjour à la Station biologique de Plön, dans une pêche planktonique très riche en Flagellates et en Volvocacées, faite dans le Unterer Ausgraben-See.

Comme nous venons de voir, elle se distingue de toutes les autres espèces de ce genre, d'abord par la réduction remarquable de ses aiguilles; ensuite, par la structure de sa carapace qui est constituée d'anneaux parallèles et imbriqués.

Notre organisme est, en tous points, identique à un *Mallomonas* décrit sous le nom de *M. calva* par notre Maître, le Prof. J. MASSART, dans les observations qu'il a faites dans le temps sur un très grand nombre de Flagellates, travail à l'état de notes et dessins non publiés, et qu'il a eu l'extrême obligeance de me confier. La description brève qu'il y donne de son organisme correspond absolument à celle du nôtre, sauf en ce qui concerne le nombre des vacuoles, qui est 2 d'après M. MASSART, et 3 d'après nous.

Hockai, 16. X. 1900 (MASSART).

Plön, Unterer Ausgraben-See, 11. VII. 1913 (CONRAD).

Bruxelles, Institut Botanique LÉO ERRERA, novembre 1913.

### Résumé.

1. Nous avons fait quelques observations sur la morphologie et le développement d'une espèce nouvelle: *Mallomonas mirabilis* nob.

Nous avons observé la division longitudinale, la présence de spores, et la formation de stades amiboïdes et de stades palmellaires.

La cellule de cette Chrysomonadine quitte la carapace silicifiée et constitue une cellule amiboïde très métabolique, émettant de courts pseudopodes, à alimentation holophytique et vacuolaire à la fois. Dans un ou deux cas nous avons vu également la formation de pseudopodes excessivement fins.

Les stades amiboïdes viennent au repos, s'arrondissent, forment une couche périphérique de gelée, et constituent des palmelles.

Nous avons encore donné un court aperçu sur les différents modes de multiplication des Chrysomonadines.

2. Description du *Mallomonas calva* MASSART n. sp. — La carapace est formée, non de paillettes imbriquées, mais d'anneaux transversaux portant des aiguillons excessivement courts.

### Zusammenfassung.

1. Es wird eine neue *Mallomonas*-Art (*Mallomonas mirabilis*) beschrieben. Bei dieser *Mallomonas mirabilis* wurden sehr häufig rhizopodiale und Palmellastadien beobachtet, ähnlich denen, die PASCHER für *Synura uvella* angegeben hat. Damit ist wieder ein neuer Fall des Auftretens rhizopodialer Stadien bei Flagellaten konstatiert.

a) Beschreibung. Zellen groß, 45—65  $\mu$  lang, 22—33  $\mu$  breit; oval bis länglich birnförmig; Vorderende abgerundet, Hinterteil schwach zugespitzt, manchmal auch schwanzartig ausgezogen. — Kieselplättchen der Hülle kreisrund, dachziegelartig in parallelen Querreihen angeordnet. — Die Zelle ist mit 40—50  $\mu$  langen, starren, radial abstehenden Kieselnadeln bedeckt; in der hinteren Hälfte sind sie schwach nach hinten gerichtet; die basalen Nadeln sind etwas länger als die anderen. Die Nadeln sind glatt, nie an den Enden gezähnt.

Geißelinsertion von keinem Borstenkranze umgeben.

Zwei wohlentwickelte, muldenförmige, wandständige Chromatophoren. — Am Hinterende eine große, runde Leucosinmasse, und vier bis sechs, meistens vier oder fünf, große kontraktile Vacuolen, die regelmäßig, eine nach der anderen, scheinbar immer in derselben Reihenfolge, funktionieren.

Bläschenkern oval, groß, mit deutlichem Nucleolus; stets im vorderen Drittel der Zelle gelagert.

b) Vermehrung. —  $\alpha$ ) Längsteilung (Fig. 2). Es wurden oft Zellen mit vier, anstatt zwei schmalen Chromatophoren, und zwei in der Querachse nebeneinander liegenden Kernen beobachtet. Endstadium nicht gesehen. Die Teilung wird stets durch die Zweispaltung der Chromatophoren eingeleitet.

$\beta$ ) Schwärmerbildung. Bei *Mallomonas mirabilis* nicht beobachtet.

γ) Rhizopodenstadien (Fig. 3, 4, 5). Der Zellinhalt tritt in Form einer Amöbe mit plumpen Pseudopodien aus; ein- oder zweimal kamen auch zarte Rhizopodien zur Beobachtung (Fig. 5). Ernährung zugleich holophytisch (Chromatophoren!) und animalisch (in Nahrungsvacuolen aufgenommene Chlorellen!).

δ) Palmellastadien (Fig. 6). Zur Ruhe gekommene Amöben-, resp. Rhizopodenstadien runden sich ab und umgeben sich mit einer Gallerthülle.

ε) Knospung. Nicht wahrgenommen. Scheint überhaupt nur in sehr vereinzelt Fällen bei den Chryomonaden vorzukommen. (Bis jetzt nur von LAUTERBORN bei *Palatinella cyrtophora* gesehen.)

ζ) Dauersporen (Fig. 7) sehr oft bei *Mallomonas mirabilis* beobachtet. Endogen gebildet. Kugelrund, mit derber verkieselter und durch Eisenoxydhydrat schwach braun gefärbter Hülle. — In mehreren Fällen beobachtete ich recht deutliche Zweiteilung des Kernes. Weiterentwicklung nicht gesehen.

\* \* \*

2. Ferner wird eine zweite neue Art: *Mallomonas calva* MASSART beschrieben. Sie zeichnet sich von allen anderen Arten durch ihre Hülle aus, die nicht aus Schüppchen, sondern aus parallelen Querreifen besteht, die mit außerordentlich kurzen Nadeln besetzt sind.

Zellen eiförmig, ca. 21  $\mu$  lang; ca. 10  $\mu$  breit. Fig. 8.

### Bibliographie.

- 1) BOLOCHONZEW: Beobachtungen über das Plankton der Wolga im Sommer 1902. Jahrb. d. biol. Wolga-Station, 1903.
- 2) BÜTSCHLI, O.: Beiträge zur Kenntnis der Flagellaten. Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. 30, 1878.
- 3) CIENKOWSKI: Über Palmellaceen und einige Flagellaten. Arch. f. mikr. Anat. Bd. 6, 1870.
- 4) CONRAD, W.: Note sur un état filamenteux du *Synura uvella*. Bull. Soc. roy. de Bot. de Belg. t. 49.
- 5) FISCH: Untersuchungen über einige Flagellaten. Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. 42, 1885.
- 6) IWANOFF: Beitrag zur Kenntnis der Chryomonaden. Bull. Acad. impér. des Sciences de Pétersbourg Série 5, t. 11, No. 4.
- 7) KLEBS, G.: Flagellatenstudien. Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. 55 Heft 2, 3.
- 8) LAUTERBORN: Eine neue Chryomonadinengattung: *Palatinella cyrtophora*. Zool. Anz. Bd. 30, 1906.
- 9) LEMMERMANN, E.: Kryptogamenflora der Mark Brandenburg. Bd. 3. Leipzig (Bornträger) 1910.



- 10) PASCHER, A.: Pyramidochrysis, eine neue Gattung der Chryomonaden. Ber. d. deutsch. Bot. Ges. Bd. 27, 1909, p. 555—562
- 11) —: Über einige Fälle vorübergehender Koloniebildung bei Flagellaten. Ibid. Bd. 28, 1910, p. 339—350.
- 12) —: Chryomonaden des Hirschberger Großteiches. Leipzig (Klinkhardt) 1910.
- 13) —: Über Rhizopoden- und Palmellastadien bei Flagellaten (Chryomonaden) usw. Arch. f. Protistenk. Bd. 25 H. 2, 1912, p. 153—200, pl. 9.
- 14) —: Flagellatae, II. dans Süßwasserflora Deutschlands, Österreichs und der Schweiz. Jena (Fischer) 1913.
- 15) PELLETAN: Note sur la reproduction du Dinobryon stipitatum. Journ. de Micr. 1883.
- 16) SCHERFFEL: Kleiner Beitrag zur Phylogenie einiger Gruppen niederer Organismen. Bot. Ztg. 1901.
- 17) —: Beitrag zur Kenntnis der Chryomonaden. Arch. f. Protistenk. Bd. 25 H. 2, 1912, p. 152, pl. 9.
- 18) SENN, G.: Flagellatae, dans ENGLER-PRANTL: Nat. Pflanzenfam. I. Teil. I. Abt.
- 19) STEIN: Der Organismus der Infusionstiere. III, 1. (Flagellaten). 1878.
- 20) WILLE, N.: Algologische Mitteilungen. PRINGSHEIM's Jahrb. f. wiss. Bot. Bd. 18.
- 21) —: On Chrysopyxis bipes og Dinobryon sertularia. Öfv. Vetensk. Medd. Förh. 1882.
- 22) WORONIN, M.: Chromophyton rosanoffii. Bot. Ztg. 1890, p. 625 et 641, pl. IX.
- 23) WYSSOTZKI: Mastigophora et Rhizopoda. Arb. d. naturf. Ges. Charkoff Bd. 21, 1887, p. 8, pl. I et II.

#### Explications des figures de la planche 4.

Fig. 1. *Mallomonas mirabilis* n. sp., vu par le pôle antérieur.

Fig. 2. Idem. Division longitudinale de la cellule. Deux noyaux et quatre chromatophores. On voit également bien les vacuoles pulsatiles, les globules d'huile, et la grosse masse de leucosine.

Fig. 3. Idem. Commencement de la formation de stades amiboïdes.

Fig. 4. Idem. Cellule amiboïde complètement libérée de la carapace; l'imbrication des paillettes sphériques de silice se voit admirablement sur la coque vide. La cellule amiboïde émet des pseudopodes qui entraînent les vacuoles dans tous les sens.

Fig. 5. Idem. Stade rhizopodial libre. Formation de pseudopodes très fins.

Fig. 6. Idem. Stades palmella. On observe très bien la zone de gelée périphérique, les chromatophores en calottes, et les petites gouttelettes d'huile.

Fig. 7. Idem. Spore encore renfermée dans l'ancienne carapace. On remarque le pore et le „bouchon“. Le développement de la spore a fortement distendu la carapace.

Fig. 8. *Mallomonas calva* MASSART n. sp. — Forme de la cellule et structure de la carapace. — *n*, noyau avec nucléole; *l*, leucosine; *v*, vacuoles.

Les figures 1 à 8 incl. ont été dessinées à l'aide de l'immersion homogène 1/12 de REICHERT et l'objectif IV, à la chambre claire. En vue de la présente publication elles ont été réduites à la moitié. — La figure 8 provient des notes manuscrites de M. le professeur J. MASSART. Le grossissement s'évalue d'après l'échelle micrométrique; la figure n'a pas été réduite.

Nachdruck verboten.  
Übersetzungsrecht vorbehalten.

**Deux Infusoires planctoniques**  
***Tontonia appendiculariformis* (n. gen., n. sp.)**  
**et *Climacostomum diedrum* (n. sp.).**

Par

**E. Fauré-Fremiet,**

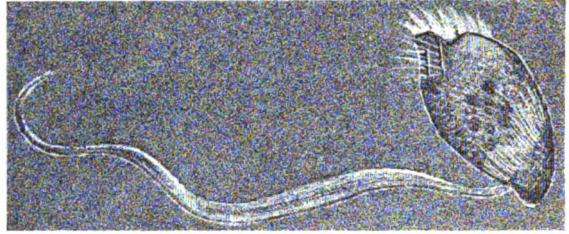
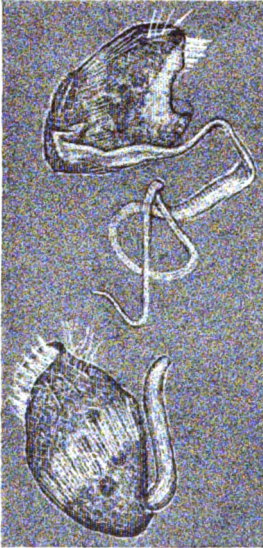
Préparateur au Collège de France (Paris).

(Avec 8 figures dans le texte.)

Les pêches de surface au filet fin, faites dans la baie du Croisic pendant l'été 1913 avec M. le professeur HENNEGUY à bord de son yacht „Cytos“, ont rapporté un plancton particulièrement riche en Protistes variés. J'étudierai dans ce travail deux Infusoires ciliés nouveaux, remarquablement adaptés à la vie pélagique. L'un est un Oligotriche voisin des *Strombidium*, mais différant de ceux-ci par la présence d'un appendice caudal fonctionnant comme la queue des Appendiculaires; l'autre est un Hétérotriche que l'on peut rattacher au genre *Climacostomum* dont il représenterait une forme très évoluée.

***Tontonia appendiculariformis* n. gen., n. sp.**

*Tontonia appendiculariformis* est un Infusoire cilié oligotriche voisin des *Strombidium*. Comme quelques uns de ceux-ci, il est de forme irrégulièrement cônique, et possède un péristome bien développé incliné sur la face ventrale, ainsi que une importante différenciation squelettique constituée par une ceinture de bâtonnets intracytoplasmiques; mais il possède en outre un appendice caudal rétractile, fonctionnant lorsqu'il est étendu comme appareil de propulsion, et constituant un caractère générique nouveau.

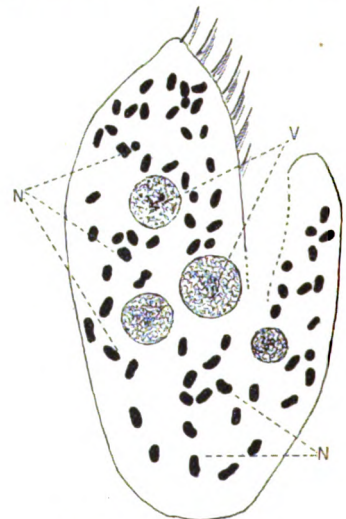


Textfig. 1. *Tontonia appendiculariformis*.  
Différents aspects observés *in vivo*.

Forme générale du corps. Le corps de *T. appendiculariformis* mesure environ  $140\ \mu$  de long sur  $80\ \mu$  de large. Il est de forme très irrégulièrement cônica, et sa partie antérieure, représentant la base du cône, est fortement excavée par la dépression péristomienne; celle-ci, limitée à gauche par une

lèvre latidorsale constituant en quelque sorte le front et portant la frange odorale sur sa face interne, et à droite par une saillie moins développée à la base de laquelle s'ouvre le cytostome. Le bourrelet péristomien, rigide et

aminci, est de ce fait légèrement échancré



Textfig. 2. *Tontonia*.  
(Coupe optique. a. c. osmique, carmin.)  
N. noyau fragmenté. V. vacuoles digestives.

sur la face dorsale de l'individu, et profondément ouvert sur sa face ventrale. La ceinture squelettique est obliquement située de gauche à droite; l'appendice caudal naît à la partie dorsale postéri-

eure dans une légère dépression et forme un appendice cylindrique relevé contre la face dorsale de l'Infusoire et mesurant environ 110  $\mu$  de longueur en rétraction; rubané, ondulant et atteignant près de 400  $\mu$  de longueur lorsqu'il est étendu.

L'appareil ciliaire est constitué outre le frange adorale, par quelques séries longitudinales, situées près du péristome, de longs cils peu nombreux, et par une série de soies très courtes insérées sur toute la longueur de la queue.

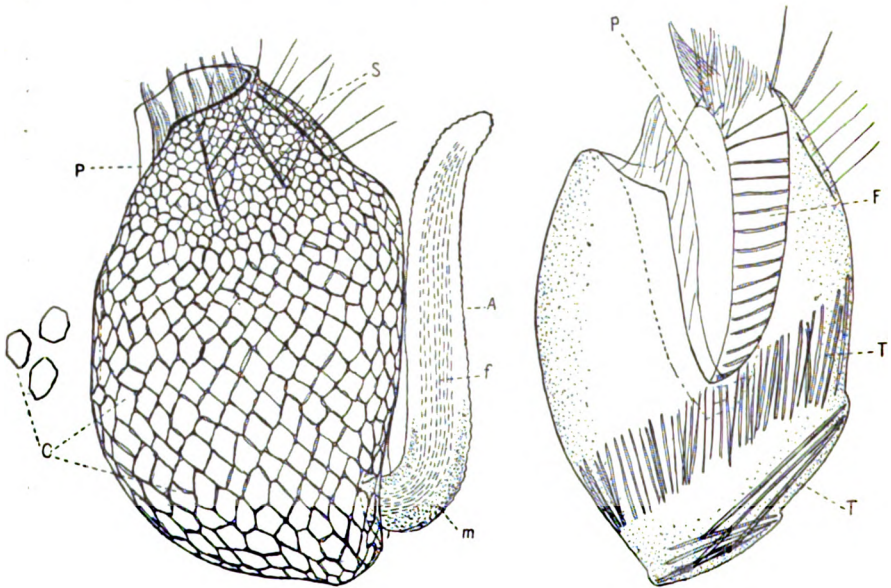
Il existe enfin un tégument particulier formé de lamelles polygonales.

**Cytoplasma.** N'ayant en a ma disposition qu'un petit nombre de *Tontonia*, je n'ai pu étudier les propriétés physico-chimiques de son cytoplasma, d'ailleurs rempli de vacuoles et de résidus digestifs. Il appartient probablement au type hétérogène, montrant une structure filamenteuse *in vivo*, type que j'ai étudié déjà chez quelques Infusoires (1910 et 1911).

**Appareil nucléaire.** L'appareil nucléaire est constitué (fig. 2), par un très grand nombre de petites masses ovoïdes mesurant de 4 à 5  $\mu$  de longueur, et dont le contenu granuleux se colore fortement par le carmin ou l'hémalun. Ces petites masses semblent renfermer une ou deux granulations plus grosses de nature nucléolaire. Je n'ai pu distinguer dans l'ensemble de ces petits éléments nucléaires aucune différenciation en macro- et micronucleus.

**Tégument.** La couche ectoplasmique qui enveloppe cet Infusoire est rigide et forme un tégument différencié; lorsque l'on examine l'Infusoire vivant, ce tégument apparaît réticulé, comme la lorica de quelques Tintinnoïdiens, *Cittarocyclis* par exemple; mais on voit bientôt, par un examen plus attentif, que cette structure réticulée appartient à la surface propre de *Tontonia* et non point à une coque proprement dite, et qu'elle est due à la présence de plaquettes réfringentes, de forme losangique ou hexagonale, juxtaposées sur toute la surface du corps cytoplasmique et constituant ainsi le tégument lui-même. On peut d'ailleurs, en produisant par une compression exercée sur le couvre-objet, ou par un glissement de celui-ci, obtenir la dilacération de l'Infusoire, et constater que les plaquettes ne forment pas une cuticule continue, mais peuvent se séparer les unes des autres. Sur la partie antérieure du corps ces lamelles sont de petite taille; elles mesurent de 3 à 5  $\mu$  environ, et leur contour est irrégulièrement hexagonal; leur ensemble est coupé par quatre lignes l'implantation ciliaires formant de légers sillons au fond desquels l'ectoplasma sous-jacent est à nu. Sur la

surface des régions moyenne et postérieure du corps, les lamelles sont plus grandes; elles atteignent 7 à 8  $\mu$  et leur forme est plus souvent losangique. Je n'ai pu étudier la nature chimique de ces lamelles cuticulaires; peut être sont elles constituées par une substance chitineuse analogue à celle qui forme la coque ou lorica des Tintinnoidiens; cette dernière étant une sécrétion superficielle de ces Infusoires, on peut se demander si la cuticule lamellée de *Tontonia* n'en serait point l'équivalent morphologique et si cette



Textfig. 3.

Textfig. 4.

Textfig. 3. *Tontonia*. Coté gauche montrant le revêtement de plaquettes cuticulaires C; le péristome P; les cils dorsaux S; l'appendice caudal rétracté A; avec le faisceau fibrillaire f, et les mitochondries sarcoplasmiques en m.

Textfig. 4. *Tontonia*. Face ventrale montrant le péristome P. Le frange adoraie F (les membranelles ne sont pas toutes représentées). L'anneau de soutien formé de tigelles élastiques T et T.

curieuse espèce ne présenterait pas de ce fait, un caractère intermédiaire entre ceux des Oligotriches nus et celui des Oligotriches loriqués. Peut être aussi convient il de la comparer aux plaquettes sous-cuticulaires décrites par moi même (1905) et par SCHRÖDER (1906) chez une Vorticellide: *Campanella umbellaria*. De toute manière, elles constituent chez une forme manifestement voisine des *Strombidium*, un caractère très particulier. J'ajouterai que L. ANIGSTEIN

vient de décrire un tégument tout à fait comparable à celui de *Tontonia* chez une espèce nouvelle: *Strombidium testaceum*, qui provient du golfe de Trieste.

Appareil squelettique. J'ai déjà montré (1911) que les bâtonnets intracytoplasmiques décrits chez les diverses espèces de *Strombidium* comme des trichocystes, devaient être considérés comme des baguettes élastiques, jouant seulement un rôle de soutien et constituant un véritable cytosquelette. Chez *Tontonia*, et ceci est en rapport avec la grande taille de cet Infusoire, le cytosquelette est très développé; il est principalement constitué par une série de fines baguettes réfringentes longues de 20  $\mu$  environ, disposées parallèlement les unes aux autres, et formant une ceinture sous-ectoplasmique disposée obliquement du côté droit, ou elle se trouve environ au tiers de la hauteur de corps, jusqu'au côté gauche où elle remonte jusqu'à la moitié de cette hauteur. En dehors de cette ceinture, il existe encore quelques tigelles réfringentes, plus épaisses et longues de plus de 60  $\mu$ , isolées ou disposées en faisceaux, et qui semblent maintenir la rigidité de la partie inférieure acuminée de l'Infusoire, et de la partie moyenne de sa face gauche, au dessous du front.

Ces tigelles squelettiques et les bâtonnets de la ceinture ne fonctionnent jamais comme des trichocystes; ils sont comparables aux „trichites“ de quelques Infusoires tels que le *Didinium*. Chez d'autres *Strombidium*, j'ai montré (1911) que ces éléments sont de nature albuminoïde; élastiques et résistants, ils peuvent être isolés par éclatement de l'Infusoire; ils apparaissent alors comme des bâtonnets à surface parfaitement lisse et très réfringente, surtout avec l'éclairage ultra-microscopique. Les tigelles de soutien des *Strombidium* sont solubles en présence d'acide acétique dilué.<sup>1)</sup>

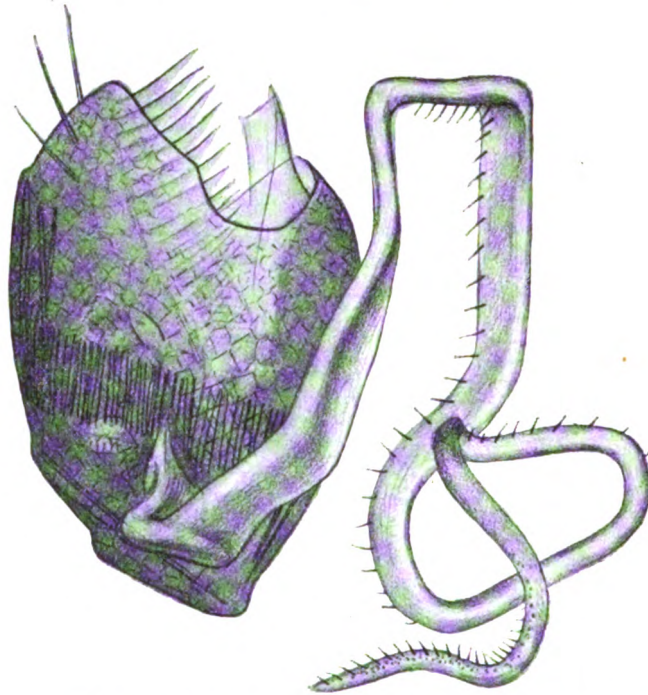
Appendice caudal. L'appendice caudal de *Tontonia* prend naissance dans une fossette elliptique ou triangulaire située à la face dorsale du corps de l'Infusoire, au niveau du quart postérieur de la hauteur totale. Le revêtement des lamelles tégumentaires s'arrête au contour profond de la fossette et l'appendice caudal est constitué par une masse cytoplasmique contractile revêtue seulement d'une très fine pellicule.

Lorsque l'appendice est contracté, sa structure intime est nettement visible *in vivo*; il est alors en forme de boudin resserré à sa base, puis légèrement dilaté, dressé antérieurement le long de

<sup>1)</sup> Cependant ANIGSTEIN figure comme de véritables trichocystes les bâtonnets de *Strombidium testaceum*.

la paroi dorsale du corps, arrondi à son extrémité distale qui est légèrement courbée en dehors. On y peut distinguer trois parties concentriques: un faisceau contractile fibrillaire; une couche cytoplasmique, une pellicule périphérique.

Le faisceau contractile, large de près de  $10\ \mu$  est formé de très fines fibrilles longitudinales, lisses, légèrement réfringentes *in vivo*, et plus nettement visibles après fixation par un réactif quelconque. Vers l'extrémité distale de l'appendice elles semblent se perdre dans sa substance cytoplasmique; vers son extrémité



Textfig. 5. *Tontonia appendiculariformis*. Vu *in vivo* par la face dorsale. L'appendice caudal est en extension, contourné sur lui-même; on voit la série de soies caudale.

proximale, elles pénètrent dans le corps de l'Infusoire, et se rattachent probablement à sa paroi ectoplasmique dorsale, sans posséder, semble-t-il, de racine ou de prolongement interne.

La couche cytoplasmique, transparente et homogène, renferme, surtout vers la base de l'appendice où elle est assez épaisse, un grand nombre de granulations mitochondriales. La pellicule, très mince, apparaît finement plissée transversalement sur toute la

longueur de l'appendice. Enfin une série de courtes soies non vibratiles, serrées les unes contre les autres est placée sur une des génératrice latérale de l'organe.

Lorsque cet organe contractile est en extension, il constitue une longue queue aplatie, très mince et acuminée à son extrémité distale, large dans sa région moyenne, et bordée d'un côté par la série des soies, espacées entre elles de quelques  $\mu$ ; la structure intime de l'organe est alors beaucoup moins distincte *in vivo*, les fibrilles contractiles étant moins réfringentes, et sans doute beaucoup plus fines; les granulations mitochondriales seules restent bien visibles, surtout vers les extrémités de cette sorte de queue.

Pendant l'extension, la queue est animée de mouvements ondulatoires assez rapides qui semblent jouer un rôle dans la propulsion de l'organisme, mais elle peut aussi s'appliquer et trainer à la surface des substratums solides; elle semble pouvoir fonctionner dans ce cas comme un organe de fixation provisoire ou de stabilisation, pendant que l'Infusoire fait fonctionner activement son appareil péristomien.

Au point de vue cytologique, la structure de l'appendice caudal de *Tontonia* est comparable à celle d'un fibre musculaire lisse, comprenant un faisceau fibrillaire, un sarcoplasma avec des mitochondries, et un sarcolemme constitué par la pellicule; mais cette fibre ne contient pas de noyau, celui-ci se trouvant dans le corps de l'Infusoire. Cette queue correspond donc à d'autres formations bien connues chez quelques Protozoaires: le cordon central d'un pédicule de Vorticelle ou le tentacule d'une Noctiluque par exemple. Comme dans le cas de ces organules, la queue de *Tontonia* se comporte comme un élément différencié bien distinct du corps cellulaire, et non comme un simple lobe cytoplasmique; en effet, si l'on considère le volume de cet appendice en contraction et en extension, on voit qu'il ne change certainement pas, et que seules ses deux dimensions principales: longueur et épaisseur, varient simultanément et inversement l'une de l'autre.

Peut-on homologuer l'appendice caudal de *T. appendiculariformis* avec un élément déjà connu dans le groupe des *Strombidium*? Je ne le crois pas. Morphologiquement, elle correspond à la partie postérieure très allongée du corps, et la preuve en est dans la série longitudinale de ses soies, qui représente un reste modifié des bandes ciliaires plus ou moins développées chez les Infusoires de ce groupe; or, si le *Strombidium stylifer* possède bien un prolongement postérieur acuminé, celui-ci, rigide et immobile, n'est nullement comparable à la queue de *Tontonia*. Seul le pédicule contractile des Tintinnidiens,



très souvent inséré presque latéralement, pourrait être homologué à est appendice.

**Péristome.** Le péristome de *Tontonia*, au lieu d'être dans un plan normal au grand axe de l'Infusoire comme chez *Strombidium sulcatum* p. ex., fait avec celui-ci un angle très aigu et forme une large échancrure sur la face ventrale comme chez *Str. viridis* et *S. grandis*. L'échancrure ventrale est limitée en avant par une lèvre mince derrière laquelle la dépression péristomienne s'enfonce plus profondément en constituant le cytostome situé vers le milieu de la hauteur totale. La frange adorale, constituée par de nombreuses, larges, et puissantes membranelles, prend naissance au fond du cytostome et monte le long du bord gauche de la dépression péristomienne; arrivée au sommet, elle s'incurve légèrement vers la droite, et s'arrête sans redescendre sur le bord droit; elle forme donc à peine un demi tour de spire.

De l'autre côté du péristome, sur le bord droit de la dépression et de l'échancrure ventrale, existe une haute membrane ondulante constituée par une lame ciliaire; mais je n'ai pu déterminer l'origine de cette membrane, et je ne sais si elle dépend de la partie inférieure de la frange adorale, ou bien si elle en est distincte et représente une ligne ciliaire parorale analogue à celle des Hétérotriches et des Hypotriches; cette hypothèse est d'ailleurs beaucoup plus vraisemblable.

**Ciliature somatique.** La ciliature du corps de *Tontonia appendiculariformis* est très réduite; en effet, outre la série des soies caudales précédemment décrite, et que l'on peut considérer comme une série longitudinale incomplète, elle comprend seulement quatre lignes ciliaires déjà citées, situées autour du péristome et dans le sens longitudinal. Ces lignes sont longues seulement de 30 à 35  $\mu$  et comprennent chacune une demi douzaine de cils très longs, animés de mouvements lents. En dehors de ces quatre rangées, il en existe une cinquième, presque dorsale, légèrement oblique, et constituée par trois éléments vibratiles plus gros, acuminés, souvent immobiles, et ressemblant à des cirres.

**Position systématique du genre *Tontonia*.** Les principaux caractères distinctifs du genre *Tontonia* sont d'une part l'inclinaison très forte sur la face ventrale de l'excavation péristomienne, d'autre part la présence de l'appendice caudal; et enfin son revêtement de plaquettes cuticulaires.

Si l'on considère la disposition du péristome chez les diverses espèces de *Strombidium* on voit que celui-ci peut être situé dans

un plan perpendiculaire ou dans un plan oblique par rapport à l'axe du corps. Le premier cas se trouve réalisé chez quelque petites formes globuleuses à natation très rapide telles que *Str. sulcatum* et *S. marinum*, et d'autre part chez une forme fixée: *Strobilidium gyrans*. Le second cas est réalisé chez des espèces libres plus grandes que les premières: *Strombidium stylifer* et *Str. grande*. Ce dernier Infusoire, bien décrit par LEVANDER (1894) ressemble beaucoup à *Tontonia appendiculariformis*, dont il ne diffère que par l'absence d'appendice caudal et de cuticule lamellée.

On a vu que l'appendice caudal de *Tontonia* pouvait être considéré comme la région postérieure du corps fortement différenciée. Or, une telle différenciation est tout à fait inconnue dans le groupe des *Strombidium* et dans la famille des Haltéridiens à laquelle ces Infusoires appartiennent. Dans ce groupe, la région postérieure du corps, généralement acuminée peut se différencier de diverses manières; chez *Strobilidium gyrans*, les rangées longitudinales de bâtonnets d'origine ciliaire se tournent en spirale à la partie inférieure du corps, de manière à constituer un petit organe semblable à la *scopula* des Vorticellides (FAURÉ-FREMIET 1910), et cette *scopula* est le siège d'une sécrétion visqueuse constituant une sorte de pédicule; elle est adaptée à la fixation. Chez le *Strombidium stylifer* la région postérieure du corps se prolonge en une sorte de style rigide, très aigu, de structure homogène, qui semble correspondre à une formation cuticulaire. Chez les autres espèces, la région terminale est obtuse et indifférenciée; mais, si l'on considère les Tintinnidiens, si voisins des Haltéridiens par tous leurs caractères, comme des *Strombidium* loriqués, c'est à dire pourvus d'une coque chitineuse plus ou moins compliquée, on voit que chez ceux-ci la région terminale inférieure de l'Infusoire donne naissance à un pédicule contractile qui en représente l'extrémité allongée et différenciée; ce pédicule est même souvent inséré dans une position légèrement latérale, comme je l'ai montré pour *Tintinnidium inquilinum*, et comme GEZA ENTZ jun. l'a observé chez de nombreux *Tintinnus*; en ce cas, la partie centrale contractile et fibrillaire du pédicule se continue le long de la paroi interne du corps de l'Infusoire par quelques fins tractus, bien visibles en contraction, *in vivo*. Ces pédicules sont très fortement contractiles, mais aussi très aisément déformables, et capables d'émettre comme des pseudopodes (FAURÉ-FREMIET 1908 et GEZA ENTZ 1909 jun.). C'est à cette sorte de prolongements contractiles, adaptés à la fixation chez les Tintinnidiens, que l'on peut comparer l'appendice caudal de *Tontonia*. Mais chez cet Infusoire, cet appendice ne semble jouer quelque rôle que dans

la natation, par ses mouvements ondulatoires, on peut être dans le cas où l'Infusoire se déplace au voisinage d'un substratum solide, comme appareil stabilisateur; on voit alors en effet l'appendice caudal s'étaler sur le substratum, en épouser les contours, et peut être même fixer temporairement le microorganisme.

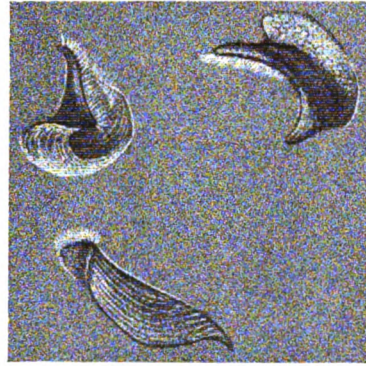
Si l'on pense maintenant que *Tontonia* est recouvert d'une sorte de cuticule que l'on pourrait peut être comparer à la lorica des *Tintinnus* et qui est identique à celle du *Strombidium testaceum*, on voit que cet Infusoire étrange se distingue surtout des *Strombidium* auxquels il se trouve étroitement apparenté, et des formes voisines, moins par la présence de caractères nouveaux que par l'exagération de caractères existants déjà chez ces derniers Protozoaires, et qui réunis chez une même espèce donnent à ses représentants un facies tout à fait particulier et paradoxal.

### *Climacostomum diedrum* n. sp.

Comme les autres Infusoires appartenant à la famille des *Stentorinae*: *Climacostomum*, *Fabrea*, *Stentor* et *Folliculina*, *Cl. diedrum* est caractérisé par une frange adorale puissante constituée par de larges membranelles, et décrivant une spirale qui encercle le champ frontal, ou pseudostome, bien distinct du péristome proprement dit; ce champ frontal est occupé par des séries ciliaires identiques par leur structure à celles qui garnissent le reste du corps, mais formant un système indépendant par son orientation. Cependant cette espèce se distingue des autres espèces du même groupe par l'absence complète des cils sur la face dorsale, par la disposition franchement ventrale du pseudostome et par l'aplatissement du corps qui est foliacé, et replié en arrière en sorte que la face ventrale forme un angle dièdre. Ces caractères suffiraient peut être pour situer cette espèce dans un genre nouveau; mais j'ai préféré la rattacher provisoirement tout au moins au genre *Climacostomum*, car si l'on peut rapprocher cet Infusoire d'une forme connue dans la famille des *Stentorinae*, il faudrait le placer à côté des *Fabrea*, et les *Fabrea* sont en quelque sorte des *Climacostomum* pigmentés, caractère que ne possède point cette forme nouvelle.

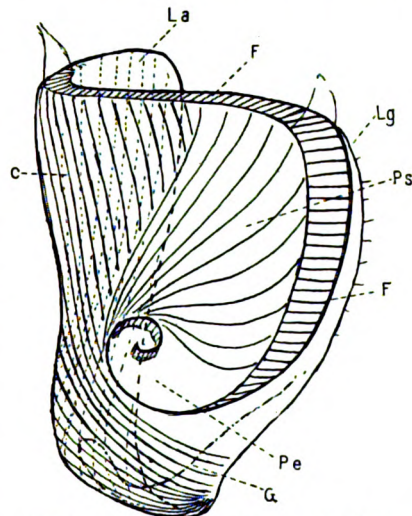
Description. *Climacostomum diedrum* mesure environ 110 à 120  $\mu$  de long sur autant de large; sa face ventrale, étalée, est de forme plus ou moins triangulaire ou irrégulièrement ovale; la partie droite du corps forme un lobe très mince, replié en arrière, la partie gauche, très mince à sa partie supérieure, est bordée par la frange

adorale, et porte ventralement le péristome proprement dit et le pseudostome. La face ventrale forme donc un angle très prononcé, et la face dorsale se bombe légèrement derrière le cytostome, de manière à former une gibbosité dorso-postérieure plus ou moins accentuée, occupée par une masse protoplasmique renfermant les bols alimentaires et des granulations graisseuses; cette gibbosité est plus ou moins enveloppée par le repli que forme le lobe droit du corps, repli qui intéresse également la partie inférieure du corps.



Textfig. 6. *Climacostomum diedrum*.  
Différents aspects observés *in vivo*.

Frange adorale. La frange adorale commence dans le cytostome situé sur la face ventrale au milieu du lobe gauche et au tiers inférieur de la hauteur de ce lobe. Elle décrit d'abord une courte spirale en se portant à gauche et en haut, puis à droite et en bas; située alors dans un plan perpendiculaire à la face ventrale, elle va rejoindre le bord gauche de celle-ci en s'inclinant peu à peu jusqu'à se trouver dans le plan de cette face; elle remonte ensuite le long du lobe gauche, et continue sa spire sénestre en s'incurvant vers la droite et en suivant la partie supérieure du corps. Elle s'arrête bientôt avant de redescendre. La surface ventrale limitée par la frange adorale constitue un demi cercle dont la partie inférieure voisine du cytostome et comprise dans la petite courbure de la frange, est excavée et forme le péristome proprement dit, et dont le reste forme le pseudostome ou champ frontal.



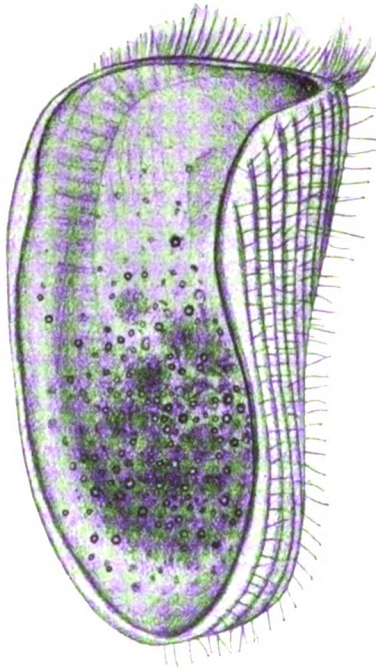
Textfig. 7. *Climacostomum diedrum*.  
Schéma de l'appareil ciliaire. Pe. péristome; F. frange adorale; Ps. pseudostome; C. lignes ciliaires somatiques; Lg. lobe gauche; Ld. lobe droit; G. gibbosité dorsale.

Celui-ci est parcouru par une dizaine de lignes ciliaires qui prennent naissance sur le bord externe de la petite courbure de la frange adorale, tout près du cytostome, et qui, très rapprochées les unes des autres en ce point, s'écartent progressivement et occupent toute la largeur du champ frontal en décrivant une série de lignes courbes à peu près parallèles, dirigées antérieurement et vers la droite.

**Ciliature somatique.** L'appareil ciliaire de *Climacostomum diedrum* comprend, en dehors de la ciliature du pseudostome, un grand nombre de lignes d'implantation longitudinales et à peu près parallèles; le plus grand nombre de ces séries ciliaires prennent naissance à la partie postérieure gauche de la face ventrale, d'où elles se dirigent vers la partie antérieure médiane et droite, en s'inclinant et en s'incurvant plus ou moins. Quelques séries parallèles

de moindre longueur se trouvent situées entre le bord supérieur de la face ventrale, et les lignes ciliaires du pseudostome dont elles rencontrent obliquement la plus externe.

**Comparaison avec *Fabrea*.** Si l'on compare *Cl. diedrum* avec *Fabrea salina* p. ex., espèce qui peut être considérée comme un *Climacostomum* assez différencié, on voit qu'il en diffère surtout, la question du pigment étant écartée, par la réduction du corps en volume et par son augmentation en surface. La rostre aigu qui termine le champ frontal de *Fabrea salina* est représenté chez *Cl. diedrum* par l'angle antérieur du lobe gauche du corps; dans ces conditions, le reste du péristome présente à peu près la même structure chez ces deux espèces. Mais le corps



Textfig. 8. *Climacostomum diedrum*.  
vu par la face dorsale, le lobe droit replié  
en arrière.

de *Fabrea*, qui est volumineux et subsphérique, se réduit chez notre espèce à la gibbosité cytoplasmique dorsale, enveloppée dans le large repli du mince lobe gauche de l'Infusoire, qui représente l'étalement de sa face ventrale. Il est possible d'autre part, que le grand

développement de la surface ventrale, et le repliement de celle-ci en arrière soit en rapport avec la disparition des cils dorsaux.

**Cytoplasma et noyau.** Le cytoplasme de *Climacostomum diedrum* est homogène et renferme, un grand nombre de globules réfringents osmioreducteurs de nature graisseuse. L'appareil nucléaire est constitué par deux macronucleus ovoïdes ou piriforme, à chacun desquels se trouve accolé un petit micronucleus logé dans une dépression de la membrane.

**Position systématique de *Climacostomum diedrum*.** On a vu que *Cl. diedrum* peut être comparé, malgré son apparence paradoxale, à des formes telles que les *Fabrea*, lesquelles ne diffèrent essentiellement des *Climacostomum* que par leur pigmentation; *Cl. diedrum* et *Fabrea salina* par exemple, sont tout deux des Hétérotriches libres, à pseudostome et à frange adorale très développés. Or il semble que le *Climacostomum diedrum* soit une forme particulièrement adaptée à la vie pélagique, car il est avant tout caractérisé par sa grande surface; c'est un Infusoire lent, qui nage doucement en décrivant des courbes, des cercles ou des hélices modifiées par les mouvements de ses deux lobes ventraux, mais qui par sa forme même se trouve être plus que tout autre le jouet des moindres fructuations de l'eau. C'est un microorganisme planctonique que j'ai rencontré uniquement dans des pêches de surface et qui partage avec beaucoup de ses congénères la réalisation d'une surface maxima.

### Ouvrages cités.

- ANIGSTEIN, L. (1913): Über *Strombidium testaceum* nov. sp. Arch. f. Protistenk. Bd. 32.
- ENTZ, G. jun. (1909): Studien über die Organisation und Biologie der Tintinniden. Arch. f. Protistenk. Bd. 15.
- FAURÉ-FREMIET (1905): Sur l'organisation de la *Campanella umbellaria*. C. R. Soc. de Biol.
- (1908): Le *Tintinnidium inquilinum*. Arch. f. Protistenk. Bd. 11.
- (1910): La fixation chez les Infusoires ciliés. Bull. Scient. de la France et de la Belgique T. 44.
- (1912): Etude cytologique sur quelques Infusoires des marais Salants du Croisic. Arch. d'Anat. micr. T. 13.
- LEVANDER (1894): Materialien zur Kenntnis der Wasserfauna in der Umgebung von Helsingfors. Acta societatis pro fauna et flora Faunica. XII. No. 2.
- SCHRÖDER (1906): Beiträge zur Kenntnis von *Campanella umbellaria*. Arch. f. Protistenk. Bd. 7.

*Nachdruck verboten.  
Übersetzungsrecht vorbehalten.*

(Du Laboratoire de Bactériologie de l'Hopital Militaire et du  
Muséum Bocage de Lisbonne.)

## **La Flagellose des Euphorbes.**

Par  
**Carlos França.**

(Avec planche 5 et 4 figures dans le texte.)

---

### **Sommaire.**

	<b>pages</b>
I. Historique . . . . .	109
II. Distribution géographique . . . . .	109
III. <i>Leptomonas davidi</i> LAFONT . . . . .	110
Morphologie et structure . . . . .	111
Multiplication . . . . .	112
Cultures . . . . .	114
Inoculation . . . . .	115
Dégénérescence . . . . .	116
IV. La Flagellose . . . . .	118
Symptomes . . . . .	119
Curabilité . . . . .	122
Histologie pathologique . . . . .	122
Agent transmetteur . . . . .	127
Immunité . . . . .	129
V. Bibliographie . . . . .	130
VI. Explication de la Planche . . . . .	131

### Historique.

En Avril 1909 l'attendant du Laboratoire de l'Île Maurice, DAVID, découvre dans le latex d'*Euphorbia pilulifera* un Flagellé très mobile. Quelque temps après LAFONT <sup>1)</sup> directeur du Laboratoire trouvait ces mêmes Flagellés dans le latex d'une *E. thymifolia* et d'une *E. hypericifolia* et les décrivait soigneusement en leur donnant le nom de *Leptomonas davidi*.

LAFONT signalait en même temps quelques symptômes de maladie présentés par les plantes infectées et proposa la désignation de Flagellose pour la maladie des Euphorbes.

Bientôt après, l'existence de *Leptomonas davidi* était signalée dans différents pays tropicaux par BOUET et ROUBAUD (4), NOC et STEVENEL (6), DONOVAN (2), RHODAIN et BEQUAERT (8), A. LÉGER (10).

En Europe, FRANÇA, découvrait (9) le parasite chez deux espèces d'*Euphorbia* du Portugal, *E. peplus* L. et *E. segetalis* L. var. *pinca* (L.) l'une desquelles (*E. peplus*) n'avait jamais été rencontrée parasitée à Maurice ou ailleurs.

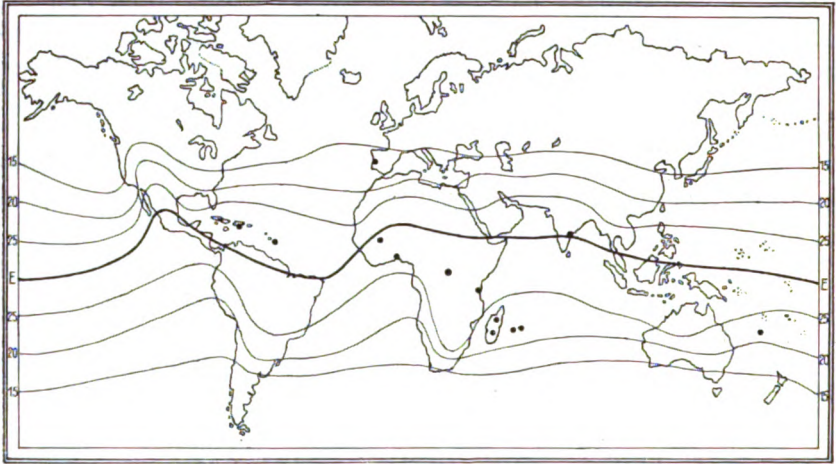
### Distribution géographique.

L'existence de *Leptomonas davidi* a été signalée jusqu'à présent dans les points qui sont indiqués dans le tableau suivant:

Localité	Espèces parasitées	Auteur
Maurice	<i>Euphorbia pilulifera, thymifolia et hypericifolia</i>	LAFONT (1909)
Réunion	<i>E. thymifolia et pilulifera</i>	VINCENT (1910)
Madagascar	"	CAROUGEAU et LE FERS (1910), LAFONT (1911)
Mayotte	"	LAFONT (1911)
Zanzibar	<i>E. pilulifera</i>	LAFONT (1911)
Dahomey	"	BOUET et ROUBAUD (1911)
Congo belge	<i>E. indica</i>	RODHAIN et BEQUAERT (1911)
Haut Sénégal et Niger	<i>E. pilulifera</i>	A. LÉGER (1911)
Martinique	<i>E. pilulifera et hypericifolia</i>	NOC et STEVENEL (1911)
Antilles	"	NOC et STEVENEL (1911)
Nouvelle Calédonie	?	LEBOEUF et JAVELLY
Madras	<i>E. pilulifera</i>	DONOVAN (1909);
Portugal	<i>E. peplus et segetalis</i>	FRANÇA (1911)



La flagellose est donc principalement une maladie de la zone tropicale mais on peut la trouver aussi, bien que rarement, dans la zone tempérée à saison chaude. On trouve la ligne isotherme



Textfig. A.

de  $+ 15^{\circ}$  limitant la distribution de la maladie au nord, et l'isothermique de  $+ 20^{\circ}$  limitant la flagellose au Sud (textfig. A).

### ***Leptomonas davidi*** LAFONT 1909.

Dès sa première note sur le Flagellé parasite du latex des Euphorbiacées LAFONT a placé ce parasite dans le genre *Leptomonas*.

DONOVAN (2) dans les quelques mots dans lesquels il fait des références au parasite des Euphorbiae le considère comme devant appartenir à un nouveau genre — *Phytomonas*.

Ainsi dit-il: "The organism differ from the known flagellates parasitic on animals and will doubtless be placed in a new genus for which I suggest the name of *Phytomonas*".

Je crois bien que c'est aller trop loin dans les coupures génériques. Le Flagellé vivant dans le latex des Euphorbiacées, quoique ayant quelques particularités structurales, n'a rien dans sa morphologie qui l'éloigne des formes vivant dans l'intestin et dans la cavité générale des insectes.

On doit donc continuer à considérer ce Flagellé comme appartenant au genre *Leptomonas*.<sup>1)</sup>

*Leptomonas davidi*, comme les autres *Leptomonas*, peut se présenter sous différents aspects. Sous sa forme la plus commune, celle qu'on trouve habituellement dans le latex des Euphorbiacées, c'est un parasite long et étroit (16,5  $\mu$  à 19,5  $\mu$  de long sur 1,5  $\mu$  de large). Le corps s'amincit graduellement vers l'extrémité antérieure. Le corps du parasite est, dans sa partie postérieure, tordu 2 ou 3 fois autour de son axe ce qui lui donne un aspect un peu différent de celui des autres *Leptomonas*. A l'état vivant cette Leptomone se déplace rapidement, le flagelle en avant. Quelques exemplaires sont fixés aux particules du latex par son extrémité postérieure et alors on les voit animés d'un mouvement pendulaire. La torsion du corps persiste même pendant les mouvements du parasite.

Pour faire l'étude du parasite nous avons employé le GIEMSA et l'hématoxyline ferrique après fixation par le liquide de SCHAUDINN. Les préparations colorées par l'hématoxyline ferrique montrent très bien la morphologie du parasite (pl. 5 fig. 1 à 4).

Le cytoplasme ne présente, d'ordinaire, aucune particularité structurale digne de remarque. Chez quelques exemplaires il est tacheté.

A une courte distance de l'extrémité antérieure (1,5  $\mu$ ) on voit le blépharoplaste qui est rond, très petit (0,5  $\mu$ ) et qui se colore intensivement. Immédiatement en arrière du blépharoplaste il existe une petite vacuole.

Le noyau qui est d'ordinaire situé dans l'union du tiers antérieur avec le tiers moyen du corps, à 3  $\mu$  en arrière du blépharoplaste, est elliptique et son plus grand axe coïncide avec celui du corps du parasite. Il est relativement petit (2 à 3  $\mu$  dans son plus grand diamètre), et il a une structure rudimentaire. La chromatine est diffuse et, dans le centre, on trouve un petit caryosome (pl. 5 fig. 4).

Dans les formes en torsade, qui constituent le plus grand nombre des formes longues, fréquemment le noyau reste invisible parcequ'il se trouve au niveau de la première torsion (pl. 5 fig. 2).

Le flagelle, qui est relativement long (il mesure de 10,5  $\mu$  à 16,5  $\mu$ )<sup>2)</sup>, prend naissance directement sur le blépharoplaste.

<sup>1)</sup> Ou bien au genre *Herpetomonas*, puisque on ne connaît pas encore les différences entre ces deux genres, l'espèce type du genre *Leptomonas* (*L. bütschlii* KENT) n'ayant été étudiée par les modernes processus de technique.

<sup>2)</sup> Le parasite ne possède aucune granulation basale ni un rhizoplaste.

Dans les préparations colorées par le GIEMSA le parasite se teint en violet plus foncé vers la moitié antérieure (pl. 5 fig. 18 et 19).

A coté de ces exemplaires longs et étroits on trouve d'autres plus petits, plus trapus. Ces formes plus petites ne présentent pas la torsion presque constante chez les formes adultes.

On observe aussi quelquefois de petites formes rondes ou ovales sans flagelle, identiques aux formes de *Leishmania* (pl. 5 fig. 20). La seule forme de multiplication, que le parasite présente dans le latex, c'est la division longitudinale.

C'est sur des préparations colorées par l'hématoxyline ferrique, après fixation par le SCHAUDINN, qu'on peut suivre tous les détails de la multiplication de *Leptomonas davidi*. Les bonnes préparations par le GIEMSA sont aussi très elucidatives.

Les exemplaires qui sont en train de se diviser se colorent plus intensivement que ceux en repos, et deviennent piriformes (pl. 5 fig. 5).

Le blépharoplaste s'allonge transversalement et prend la forme d'un bâtonnet perpendiculaire à l'axe du parasite (pl. 5 fig. 5 et 6).

D'ordinaire, même avant le commencement de la division du blépharoplaste apparaît un second flagelle. Ce flagelle prend naissance dans l'extrémité du blépharoplaste opposée à celle d'où sort le flagelle primitif, le plus long (fig. 5—7).

Ceci nous permet de vérifier que chez les *Leptomonas davidi* le nouveau flagelle est de récente formation et qu'il ne résulte jamais de la division du flagelle primitif. Dans les préparations des *Leptomonas* des Euphorbiacées, on trouve fréquemment des formes ayant deux flagelles, un long et l'autre très-petit, prenant leur insertion sur un blépharoplaste en bâtonnet transversal.<sup>1)</sup>

Après l'apparition du second flagelle, des phénomènes de division se manifestent dans le noyau. L'axe du noyau devient oblique par rapport à celui du parasite, son caryosome s'allonge et prend la forme en haltère, et il se divise ensuite (pl. 5 fig. 8). Autour de ces caryosomes, les noyaux fils se régénèrent.

<sup>1)</sup> Ces formes qui rappellent celles trouvées par WENYON (18) dans les cultures de *Leishmania tropica* sont très rares ou n'existent pas chez d'autres *Herpetomonas*. Dans la plupart de ces parasites les flagelles des formes filles résultent, d'ordinaire, d'un dédoublement du flagelle primitif. Chez quelques rares formes le second flagelle peut-être de nouvelle formation. C'est le cas de l'*Herpetomonas* du *Neuroctena anilis* d'après Miss MACKINNON (17). ALEXIEFF a figuré (20) aussi l'apparition précoce d'un nouveau flagelle chez *H. jaculum*. Chez les *Herpetomonas* parasites du latex, au contraire, le second flagelle est toujours de nouvelle formation et son apparition est précoce.

A cette phase du processus de multiplication les blépharoplastes sont déjà séparés, et la division du cytoplasma est déjà commencée. Celle-ci débute toujours par l'extrémité antérieure (pl. 5 figs. 11—14).

Jusqu'à la fin du processus l'inclinaison de l'axe de division nucléaire se maintient, de sorte qu'un des noyaux fils reste accolé au blépharoplaste correspondant, tandis que le noyau de l'autre forme reste à une certaine distance du blépharoplaste respectif (pl. 5 fig. 13).

L'inclinaison de l'axe du noyau ne paraît pas se faire indifféremment; d'ordinaire le pôle du noyau tourné vers l'extrémité antérieure s'incline vers le blépharoplaste d'où sort le nouveau flagelle (pl. 5 figs. 6—10 et 13).

Ces particularités dans la division de *Leptomonas davidi* sont constantes. Nous avons pu les trouver dans nos préparations de 1911 de *Euphorbia pepplus* et de *E. segetalis* aussi bien que dans les préparations des *E. segetalis* malades que nous avons étudiées en 1913. Nous avons, souvent, trouvé des individus ayant la partie postérieure du corps dédoublée sur une extension variable (pl. 5 figs. 15 et 16).

Chez certains exemplaires cette singulière scision du cytoplasme peut intéresser le corps du parasite en toute sa longueur (fig. 16). GH. ZOTTA en décrivant (19) l'Herpetomone parasite de *Pyrrhocoris apterus* a bien décrit et figuré ce curieux processus de scision du Flagellé. De mes observations et de celles de ZOTTA on doit conclure qu'il s'agit d'un déchirement du cytoplasme, qui n'a rien à voir avec les phénomènes de multiplication. C'est un cas tout-à-fait différent de celui observé par MURIEL ROBERTSON (15) chez les formes d'évolution du *Trypanosoma raiæ* chez *Pontobdella muricata*. Dans le cas du *T. raiæ* quelques formes de division postérieure du cytoplasma représentent en effet une modalité de la division du parasite. La scision postérieure de *Leptomonas davidi* s'observe chez des exemplaires dont le noyau et le blépharoplaste ne présentent aucune indication de multiplication et, dans la plupart des cas, du corps du parasite se détache une simple bandelette de cytoplasme (fig. 16).

Nous ne savons pas à quoi attribuer cette scision postérieure puisque dans le plus grand nombre des cas nous trouvons ces formes parmi des parasites absolument normaux.

ALEXEIEFF dit (20) que *Leptomonas davidi* doit être rapporté à l'espèce vivant en parasite dans les *Nepa cinerea*. Nous ignorons la raison qui a porté ALEXEIEFF à faire une telle affirmation.

Les particularités morphologiques et structurales de *Leptomonas davidi*, signalées dans ce travail, montrent qu'il s'agit d'une espèce bien différente de *Herpetomonas jaculum* LÉGER et des autres *Leptomonas* ou *Herpetomonas*.

### Cultures.

LAFONT a tenté la culture des *Leptomonas davidi* sans obtenir de résultats appréciables.

En goutte pendante ou sous lamelle lutée à la paraffine et à la température du laboratoire (20 à 22°) LAFONT a obtenu (3) la multiplication du parasite.

Nos tentatives de culture de *Leptomonas* entre lame et lamelle lutées à la paraffine ne nous ont donné aucun résultat. Les mouvements des Leptomonas deviennent au bout de 24 heures plus ralentis et 48 heures après la plupart des formes sont immobiles. Les mouvements des Leptomonas cessent complètement au bout de 3 jours.

On ne peut attribuer cet insuccès à un épuisement du latex puisque nous avons observé la mort des parasites même quand on mélange le latex infecté à un latex de plante normale. Nous avons essayé plusieurs fois la culture du parasite dans des tubes capillaires contenant du latex de l'espèce infectée par les Leptomonas ou du latex d'autres Euphorbiacées, mais sans obtenir la culture du parasite.

Les Leptomonas trouvées chez *E. segetalis* résistent mieux dans le latex de *E. segetalis* que dans le latex d'une autre espèce, mais elles ne s'y cultivent pas.

Dans le latex de *E. segetalis* elles peuvent se maintenir vivantes jusqu'à 9 jours et se multiplier par division longitudinale comme il arrive chez la plante infectée. Dans le latex d'autres espèces, de *E. peplus* par exemple, les Leptomonas de *E. segetalis* meurent en 2 à 4 jours.

Dans nos tentatives d'inoculation il nous est arrivé de laisser en place sur l'Euphorbe un tube capillaire, ouvert aux extrémités et contenant du latex parasité mélangé à du latex de la plante à inoculer. Dans ces conditions nous avons, quelquefois, obtenu une vraie culture des Leptomonas.

La culture des *Leptomonas* des Euphorbes est, on le voit, très difficile et nous croyons que l'impossibilité d'avoir du latex non mélangé à d'autres liquides, est la cause de l'insuccès.

### Inoculation.

NOC et STÉVENEL (6) disent avoir pu reproduire une infection considérable de *E. pilulifera* faisant des inoculations au moyen d'une pipette Pasteur. Quarante huit heures après le latex de deux de trois plantes inoculées, fourmillait de Leptomonas.

L'inoculation avait été faite dans un point très limité de la plante (à la base d'une foliole) et malgré cela, l'infection, 48 heures après, était généralisée.

Ce résultat est en opposition avec ce que nous avons observé. La transmission expérimentale de la Flagellose est très difficile et, quand on l'obtient elle reste localisée. Malgré le grand nombre de tentatives que nous avons faites, nous n'avons obtenu la transmission des Leptomonas que deux fois.

La première a été en 1911. À un petit rameau indemne d'une *E. segetalis* infectée, nous avons inoculé du latex avec de nombreux parasites au moyen d'un tube capillaire en verre, que nous avons laissé en place pendant 24 heures. Un mois après ce petit rameau était infecté, se desséchait et se détachait, tandis que les rameaux voisins avaient un aspect normal.

La seconde fois que nous avons réussi à transmettre les Leptomonas à une Euphorbe ce fut en 1913. Nous nous sommes alors servi d'un fil de coton imbibé de latex contenant d'abondantes Leptomonas et avec ce fil nous avons traversé le rameau. Quelques jours après l'infection était très abondante.

Ces deux résultats positifs dans une série d'une centaine d'inoculations démontrent bien la difficulté de la transmission expérimentale. Dans la plupart des inoculations nous avons employé un processus qui nous semblait devoir réussir. Un tube capillaire en verre contenant du latex fortement infecté était introduit dans la tige de la plante indemne de sorte à rester en communication avec son appareil laticifère (on voyait le latex de la plante inoculée monter dans le tube et se mélanger au latex infecté).

On laissait en place, pendant quelques jours, ce tube où on pouvait trouver les Leptomonas très mobiles pendant ce temps.

Par ce processus nous avons obtenu un seul résultat positif chez *E. segetalis* et des résultats toujours négatifs chez *E. peplus*.

Dans les deux cas positifs l'infection a été localisée.

Aussi bien dans l'infection naturelle (comme on le verra plus loin) que dans l'infection expérimentale, il existe une période d'incubation de quelques jours pendant laquelle on ne trouve un seul Flagellé.

L'insuccès habituel dans la transmission expérimentale s'explique, sans doute, par ce que nous n'inoculons que rarement les formes infectantes, celles qui existent dans la trompe de l'insecte transmetteur. Nous croyons que ces formes doivent être les petites formes a flagellées qu'on trouve presque exclusivement dans les premiers segments de l'appareil digestif des insectes parasités par des Leptomonas.

### Phénomènes de dégénérescence.

Dans les Euphorbes malades les rameaux qui sont en train de mourir présentent, à côté des formes normales des Leptomonas, des formes dégénérées, qui sont très intéressantes. Nous avons déjà décrit sommairement ces formes dégénérées lors de nos premières recherches (11). Ces formes apparaissent quand le latex de la plante devient aqueux, presque incolore.

Dans nos récentes recherches (Juillet et Août 1913) nous avons pu vérifier la relation intime qui existe entre la lésion causée par le parasite et les phénomènes de dégénérescence de celui-ci. Ainsi chez une *E. segetalis* un rameau qui se dichotomisait avait le 28 Juillet la branche *a*, qui n'était pas encore infectée, avec l'aspect d'une bonne santé, tandis que la branche *b* qui ne possédait déjà plus une seule feuille et qui montrait les vestiges d'une amputation récente à son extrémité, avait un latex où il existaient de nombreuses Leptomonas. Le 6 Août le rameau *a*, primitivement indemne, était infecté mais les Leptomonas qu'on trouvait dans le latex avaient l'aspect et la structure des formes normales, tandis que celles du rameau *b* étaient des formes dégénérées.

Dans des rameaux qui sont infectés depuis longtemps il n'est pas rare de trouver de nombreuses formes mortes.

On voit que la *Leptomonas*, quand elle est très abondante, appauvrit le latex et que celui-ci devient incapable de suffire aux besoins du Protozoaire qui dégénère et finit par disparaître.

On comprend alors que la plante puisse guérir si les lésions ne sont pas encore assez profondes à l'occasion de la mort des parasites. C'est ce que nous avons vu dans un rameau de *E. segetalis* que nous avons trouvé fortement infecté et avec quelques formes mortes et qui, quelques semaines après, n'avait plus une seule Leptomone. Les feuilles, qu'à notre première observation étaient jaunâtres avaient, lors de notre second examen, une coloration verte. Le latex était encore aqueux.

Ordinairement la mort de la partie infectée précède celle du parasite.

Les altérations des *Leptomones* consistent non seulement dans des modifications des dimensions et de la forme, mais aussi dans des altérations de la structure du parasite.

La plupart des *Leptomones* ont des dimensions plus grandes qu'à l'état normal et on trouve de nombreuses formes rondes ou piriformes. Le cytoplasme des parasites dégénérés, colorés par le GIEMSA, prend en général une teinte rose. Les formes géantes ont quelquefois des dimensions remarquables. Ainsi nous en avons vu qui mesuraient  $30 \mu$  de long sur  $6 \mu$  de large. Les altérations les plus intéressantes sont celles du blépharoplaste. Celui-ci peut s'atrophier considérablement et même disparaître, ou subir une notable hypertrophie.

Les formes ablépharoplastiques ou à blépharoplaste atrophié (fig. 21) sont relativement rares, au contraire les formes dont le blépharoplaste est hypertrophié sont abondantes.

Le blépharoplaste perd alors sa configuration habituelle et a un contour irrégulier. La structure de ces kinetonucleus dégénérés ne rappelle plus celle du blépharoplaste normal.

C'est une structure lâche, identique à celle du noyau. Les matières colorantes colorent ces blépharoplastes comme elles le font aux noyaux principaux (figs. 22, 23 et 26).

Dans un certain nombre d'exemplaires ces blépharoplastes sont plus longs que le noyau, mais dans le plupart des cas leurs dimensions sont celles du trophonucleus ( $3 \mu$  de diamètre).

La forme des blépharoplastes altérés est très variable, chez un grand nombre de parasites il a la forme d'un trèfle, chez d'autres il a la forme d'un haltère et quelquefois encore celle d'une baguette (fig. 24).

Chez quelques *Leptomonas* on voit le blépharoplaste réduit à deux ou trois masses rondes ayant la structure lâche que nous avons mentionnée.

Le noyau de presque toutes ces formes dégénérées est constitué par de petites granulations qui se disposent le plus souvent à la périphérie sous la membrane nucléaire.

D'ordinaire, ces formes dégénérées présentent d'autres modifications.

Ainsi il n'est pas rare de voir des *Leptomonas* ayant deux ou trois noyaux de dimensions inégales rangés en long (figs. 29 et 30).



Tandis que dans les formes normales la division du blépharoplaste précède celle du noyau, chez les parasites dégénérés la division nucléaire est précoce de sorte que ces formes à deux ou trois noyaux possèdent un blépharoplaste encore unique et le plus souvent sans aucun vestige de division (fig. 30).

À côté de ces formes on trouve fréquemment des figures de division binaire se faisant comme d'habitude, mais dans lesquelles un des blépharoplastes est fortement altéré tandis que l'autre est normal (figs. 27 et 28).

Ces formes, dont les dimensions sont celles des formes normales sont très curieuses parceque tantôt c'est le blépharoplaste où prend naissance le flagelle primitif qui se présente hypertrophié et dégénéré, tantôt le blépharoplaste altéré est celui d'où part le flagelle de formation nouvelle. Habituellement le noyau correspondant au blépharoplaste dégénéré présente aussi des modifications notables de structure.

Nous devons accentuer que même dans ces formes on observe certaines particularités que nous avons mentionnées en parlant de division des formes normales.

Ainsi, chez les formes dégénérées on voit d'ordinaire l'obliquité de l'axe du noyau par rapport à celui du parasite.

Ces formes de division, malgré l'évidente dégénérescence de l'une des formes peuvent donner naissance à deux *Leptomonas*. Au contraire, les formes géantes dont le noyau a subi la division anormale que nous avons mentionnée, ne semblent jamais conduire à une multiplication du parasite.

---

### La Flagellose.

Déjà dans son premier travail de 1909 LAFONT avait signalé (1) la maladie des Euphorbes. Il disait „La plante parasitée perd ses feuilles, est de mauvaise venue et paraît souffrir dans sa croissance. Il s'agissait donc d'une véritable „flagellose“ de ce végétal“.

Dans ses travaux ultérieurs il a donné une description plus détaillée de la maladie. „En effet, à Maurice, on arrive, d'après l'aspect chétif de *P.E. pilulifera* à reconnaître les plantes parasitées. Si l'on observe un temps suffisant une plante robuste parasitée récemment, on voit peu à peu les feuilles se dessécher, se recroqueviller et tomber; à son tour la tige se flétrit, s'amincit et brunit,

souvent au moindre contact elle casse comme verre ou il se fait une amputation spontanée d'un rameau entier, avec repousse parfois à la base."

Les autres auteurs qui ont étudié *Leptomonas davidi* ne croient pas que ce Protozoaire exerce un rôle pathologique sur les plantes. Ainsi BOUET et ROUBAUD (4), NOC et STEVENEL (6), RODHAIN et BEQUAERT (8) et ANDRÉ LÉGER (10) contestent que le parasite exerce une action nocive sur la plante.

Déjà à l'occasion de nos premiers travaux sur *L. davidi*, la maladie des Euphorbiacées infectées nous a semblé incontestable quoique nous ayons alors admis la possibilité de guérison de la plante malade. Nos récentes recherches nous ont permis de nous certifier du rôle pathogénique joué par le Flagellé. L'*Euphorbia segetalis* pouvant être facilement transplantée elle se prête très bien à l'étude de la maladie.

Comme la Flagellose est d'ordinaire une infection nettement localisée, il faut étudier rigoureusement la distribution des *Leptomonas* pour pouvoir vérifier son pouvoir pathogénique. C'est ce que nous avons fait pour les différentes plantes étudiées, examinant tous les rameaux de chaque Euphorbiacée que nous avons précédemment dessinés ou photographiés.

Ainsi nous avons pu suivre la marche de l'infection, l'action que le parasite exerce sur les plantes infectées et quelquefois la guérison de la plante malade.

Les parties parasitées par les *Leptomonas* conservent pendant quelque temps l'aspect d'une bonne santé, mais peu à peu elles présentent des symptômes évidents de maladie. Les feuilles deviennent jaunâtres, celles-ci et les rameaux infectés, qui se dessèchent de la pointe vers la base et qui s'atrophient, se détachent avec la plus grande facilité.

Le moindre courant d'air les font tomber. De cette manière la plante élimine les parties malades avec la plus grande facilité.

Ces symptômes sont précédés d'un appauvrissement du latex. Celui-ci devient d'abord aqueux, presque incolore et très pauvre en bâtonnets d'amidon. Dans les phases les plus avancées de la maladie le latex disparaît complètement.

Quelquefois on observe cette disparition du latex dans des rameaux qui ne sont pas encore atrophiés. Comme nous l'avons déjà dit, dans le plus grand nombre des cas l'infection est localisée et on comprend alors que, quand les rameaux infectés sont en petit nombre la maladie reste inaperçue. Comme il arrive avec les

maladies des animaux les manifestations morbides peuvent être minimes, mais la moindre perturbation causée par la Flagellose est une atrophie, un arrêt dans le développement de la partie atteinte. C'est ce que nous avons pu voir en 1911.

De deux rameaux voisins (Textfig. B) l'un indemne (14) et l'autre fortement infecté (13) et qui avaient le 15 Septembre quand ils furent dessinés la même longueur, le rameau indemne était le 15 Octobre deux fois plus long que l'autre.

Cette atrophie était encore plus curieuse dans le cas suivant: l'une *E. segetalis* (E.) avait deux petits rameaux voisins l'un desquels, le plus long, était faiblement infecté le 28 Juillet.

Le 16 Août on ne trouvait aucune Leptomone dans ce rameau il avait guéri mais il conservait sensiblement les mêmes dimensions que le 28 Juillet. L'autre rameau, indemne depuis le commencement de notre observation, s'était développé si considérablement qu'il avait le 18 Août des dimensions doubles de celles de l'autre rameau.

Des photographies prises le 28 Juillet et le 18 Août démontrent bien cette atrophie qui a persisté malgré la guérison du rameau infecté. L'infection peut être si localisée qu'une seule, ou deux des feuilles soient infectées tandis que toutes les autres restent indemnes.

Dans ces conditions, seul un examen systématique de toutes les parties d'une plante permet de nous assurer si elle est indemne ou infectée.

En examinant attentivement une plante malade on observe, chez les rameaux infectés un vestige, d'ordinaire bien visible, de l'inoculation.

Chez *E. segetalis* on voit facilement dans les tiges infectées ce point d'inoculation. C'est un point légèrement acuminé (fig. 32 pl. 5) ayant l'aspect suivant: au centre il y a une petite tâche noirâtre, un point de nécrose, qui est entouré par une zone claire, jaunâtre, et plus en dehors par une autre zone plus large d'un rouge vif qui s'atténue graduellement vers la périphérie (fig. 31 pl. 5).

Cette lésion a un aspect qui impressionne par son analogie avec certaines lésions ulcératives des tissus animaux. Nous croyons qu'on peut considérer cette lésion comme étant l'accident primaire de la Flagellose.

Entre l'inoculation, et l'apparition de la Flagellose il s'écoule toujours un temps plus ou moins long. Nous avons pu vérifier clairement ce fait.

Sur 5 branches terminales d'une *Euphorbia segetalis*, deux n'étaient pas infectées le 29 Juillet, deux jours après avoir cueilli la plante.



Textfig. B.

Ces deux branches avaient chacune, bien visibles, les marques de l'inoculation. L'une des branches avait cette marque sous la forme d'une ulcération qui avait détruit  $\frac{3}{4}$  de son épaisseur. Le 16 Août ces deux branches étaient infectées.

Dans nos dernières recherches nous avons pu assister à la guérison des parties malades de la plante.

Ainsi le rameau 4 de la *E. segetalis* qui le 28 Juillet présentait de très nombreuses *Leptomonas*, plusieurs mortes ou dégénérées, et dont les feuilles étaient jaunâtres, ne présentait, le 12 Août, un seul parasite et il avait des feuilles vertes.

De la maladie antérieure il ne restait de vestiges que dans l'aspect aqueux du latex.

Le rameau 2 de *E. segetalis* C., qui se dichotomisait, avait le 28 Juillet de nombreuses *Leptomonas* dans les deux rameaux. Un de ces rameaux n'avait le 16 Août aucune feuille et dans son latex on trouvait de nombreux parasites, l'autre rameau avait guéri et les feuilles étaient vertes.

Ces deux observations suffisent à démontrer la possibilité de guérison de la Flagellose.

Quand l'infection est limitée à un petit nombre de rameaux la plante peut continuer à vivre et, après l'amputation des parties mortes, on voit de nouveaux rameaux repousser. Quand l'infection est généralisée, quand la tige, elle aussi, est infectée par les *Leptomonas*, l'Euphorbe meurt.

Quelquefois la mort de la plante est extraordinairement rapide, elle vient en quelques heures.

La plante qui avait encore quelques rameaux vivants, verts et ayant du latex en abondance, le lendemain a un aspect misérable, des feuilles sèches, l'épiderme plissée et ne possède guère du latex.

Dans le liquide aqueux qu'on obtient difficilement par expression on voit des *Leptomonas*, la plupart desquelles immobiles et dégénérées.

Dans le plus grand nombre des cas la mort commence par les extrémités. Il est fréquent de trouver des Euphorbes avec une tige vivante, riche en latex, mais dont les ramifications sont déjà sèches.

### Histologie pathologique.

Les tubes laticifères dans les Euphorbiacées s'étendent, en se ramifiant, d'un bout de la plante à l'autre, sans jamais offrir des cloisons et sans s'anastomoser.

Ce sont des tubes cylindriques, pourvus d'une membrane cellulosique épaisse et brillante.

Leur contenu, le latex, est riche en grains d'amidon qui, chez les espèces que nous avons étudié, ont la forme de baguette.

D'après la plupart des auteurs ces grains d'amidon ne sont pas utilisés par la plante pour sa nutrition.

Ce que nous venons de dire au sujet des laticifères des Euphorbiacées, semble être en opposition avec ce que nous avons pu voir sur la Flagellose. En effet, puisque les laticifères ont une structure continue on devait s'attendre à une généralisation rapide de l'infection par toute la plante. Or, comme nous l'avons démontré, tel n'est pas le cas; au contraire la localisation de l'infection c'est la règle. Comment peut on expliquer cette anomalie?

D'un autre côté si le latex, comme le veulent la plupart des physiologistes, reste sans utilisation pour la plante, comment doit-on interpréter la maladie et la mort des parties envahies par le Flagellé? Pourquoi l'appauvrissement du latex détermine-t-il la mort de la plante?

Pour résoudre ces deux questions l'étude histologique des plantes malades s'imposait.

Nous avons fait de nombreuses préparations de tiges, de rameaux et de feuilles de *E. segetalis* infectées par *Leptomonas davidi*. Comme fixateur nous avons employé le sublimé alcoolique de SCHAUDINN et comme méthodes de coloration, l'hématoxyline ferrique, le colorant de CHODAT et la méthode panoptique de PAPPENHEIM (MAY-GRÜNWARD-GIEMSA).

Pour vérifier la distribution de l'amidon nous avons traité les coupes par la gomme iodée.

Étudiant la distribution du parasite chez des plantes fortement infectées nous avons pu voir que les Leptomonas se trouvent exclusivement à l'intérieur des tubes laticifères. Dans les autres parties de la plante on ne trouve des parasites qu'accidentellement. D'ordinaire, même dans les tiges les plus infectées, les tubes contenant des Flagellés sont en nombre très réduit.

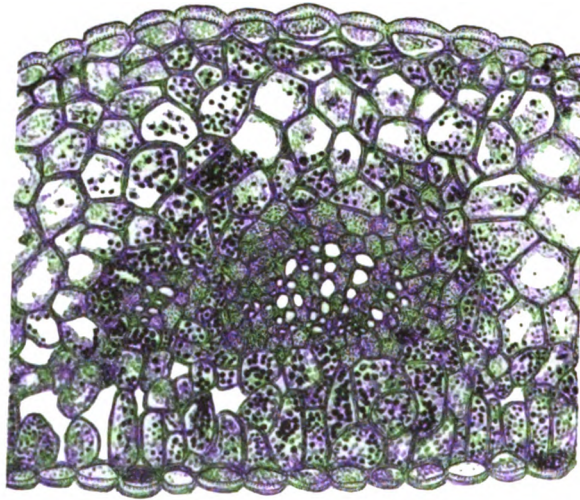
Il n'est pas rare (fig. 33 pl. 5) de trouver dans une coupe transversale d'une tige de *E. segetalis* un ou deux laticifères ayant de nombreuses Leptomonas et les autres tubes sans un seul parasite.

Ces derniers laticifères, les indemnes, contiennent une substance granuleuse et quelques rares grains d'amidon, ceux qui contiennent des Leptomonas ne possèdent d'ordinaire ni grains d'amidon ni la substance granuleuse qu'on voit dans les premiers.

Le nombre des Leptomonas qu'on trouve dans les laticifères infectés est habituellement énorme. Dans quelques rameaux nous avons pu voir de vrais embolus (fig. 34 pl. 5).

Ces agglomérations de Leptomonas qui, chez quelques rameaux, déterminent une oblitération complète du laticifère, une embolie, peuvent nous donner une explication de certaines localisations du parasite.

Dans la plupart des cas, cependant, la distribution spéciale des Flagellés, sa localisation, est sous la dépendance de la distribution des tubes laticifères.



Textfig. C.

Feuille de *E. segetalis* normale. On voit de nombreux grains d'amidon.

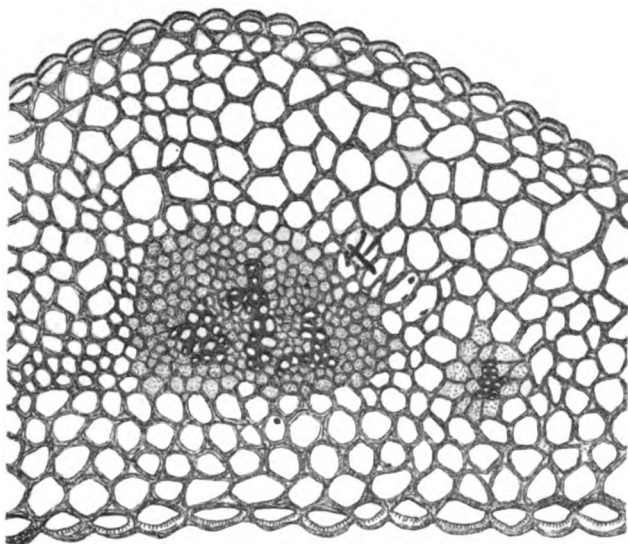
Effectivement, comme nous l'avons dit, le nombre des laticifères infectés est très réduit, et on comprend alors que, ces tubes étant indépendants, les Flagellés se trouveront seulement où se distribuent les ramifications des tubes infectés. Le parasite reste localisé aux laticifères où il est inoculé mais, dans ceux-ci, il se multiplie largement de sorte à donner rapidement l'infection en amont et en aval du point d'inoculation.

Quand l'inoculation a été faite non pas dans la tige, mais dans les rameaux, l'infection est le plus souvent localisée et c'est d'ordinaire un des noeuds qui semble arrêter la marche de l'infection. Alors la localisation du parasite est sous la dépendance d'un processus d'embolie parce que c'est dans le voisinage des noeuds que ces

embolus se trouvent habituellement. Ces embolus sont constitués non seulement par les parasites mais aussi par de grandes masses (fig. 35) qui semblent résulter d'un processus de coagulation du latex.

*Leptomonas davidi* produit des altérations très accentuées dans le latex, celui-ci devient aqueux et pauvre en grains d'amidon.

Cette disparition des grains d'amidon est aussi notable dans les cellules des parenchymes quoique le parasite n'habite que les tubes laticifères. Il n'est pas rare de trouver des feuilles ou des tiges chez lesquelles tout l'amidon des cellules est disparu, persistant seulement quelques rares bâtonnets à l'intérieur des laticifères (Textfig. D).



Textfig. D. Feuille de *E. segetalis* malade.  
Les grains d'amidon ont disparu presque complètement.

Le parasite exerce donc une action à distance au moyen de ses sécrétions de sorte à faire diminuer l'amidon de la plante.

À la longue on voit même les corps chlorophylliens diminuer et finir par disparaître. On comprend alors que la plante finisse par mourir d'inanition.

Dans les cas les plus légers le processus morbide n'a pas évidemment la même netteté, les grains d'amidon ne disparaissent pas, mais la maladie de la plante est sans doute encore sous la



dépendance des altérations du latex. TREUB a en effet observé que chez les Euphorbes les canaux laticifères aident à la translation des matières féculentes et ainsi on comprend que les infections moyennes puissent bien se limiter à produire l'atrophie des parties envahies par les Leptomonas.

Si la mort des Leptomonas arrive avant que l'amidon et les corps chlorophylliens soient disparus, la plante guérit. Les chloro-leucites réparent les pertes produites par le parasite et seule la croissance de la partie qui avait été malade, est ralentie.

La Flagellose est donc une maladie de nutrition causée par un Protozoaire.

Dans le point d'inoculation existent des altérations très accentuées qui constituent ce que nous avons appelé l'accident primaire. Cette lésion qui a une section sensiblement triangulaire, et dont la base, constituée par l'épiderme, est acuminée, s'étend en profondeur jusqu'au faisceau libéroligneux plus proche.

Au niveau de l'acumination les cellules épidermiques et les cellules parenchymateuses plus superficielles sont altérées de sorte qu'elles forment une masse homogène où on n'arrive pas à distinguer les limites des cellules.

Ceci correspond à la tache noire, au point nécrosé, qu'on voit dans le centre de la lésion.

Immédiatement en dessous de cette masse de cellules nécrosées on trouve dans la plupart des cas une large trainée de liège. Entre l'épiderme nécrosée et les couches de liège les cellules parenchymateuses sont fortement altérées, à contours imprécis et à noyaux altérés, déformés.

Les cellules parenchymateuses sous jacentes aux trainés subéreuses ont leurs parois fortement épaissies, incrustées, et leurs noyaux présentent une forme très irrégulière.

L'étude de la distribution des Leptomonas au niveau des accidents primaires démontre évidemment qu'ils correspondent en effet au point d'inoculation de la maladie.

Quand ils sont situés sur le tige principale de l'Euphorbe on trouve infectés les laticifères placés entre les cellules altérées du parenchyme et le faisceau libéroligneux plus proche, quand, au contraire, ils siègent sur un rameau d'un petit diamètre, on trouve des Leptomonas en grande quantité non seulement dans les laticifères plus proches mais aussi, quelquefois, dans ceux plus éloignés.

Dans les vaisseaux ligneux, surtout dans les vaisseaux ponctués, et quelquefois dans les vaisseaux libériens, dans le voisinage immédiat

de quelques accidents primaires récents, nous avons pu trouver quelques rares *Leptomones*, ce qui démontre que l'infection des tubes libéroligneux est possible mais que le parasite ne trouve dans la sève un milieu propice à son développement.

Dans les préparations colorées par le CHODAT (fig. 36 pl. 5) toute la lésion se détache en jaune sur le fond rose des tissus normaux, ce que nous montre que les membranes de toutes les cellules sont incrustées. Quelquefois les vaisseaux plus proches du point d'inoculation se montrent aussi altérés (fig. 36 pl. 5).

Les cellules qui occupent le centre de la lésion ont leur protoplasma profondément dégénéré, réduit à des masses, plus ou moins nombreuses, d'une substance noire.

Ces phénomènes de dégénérescence protoplasmique sont surtout faciles à voir sur des préparations non colorées.

Dans la région qui est en contact immédiat avec la lésion que nous venons de décrire, les cellules parenchymateuses montrent quelques modifications. Quoique la membrane de ces cellules se colore en rose par la méthode de CHODAT, comme il arrive avec les cellules normales, on voit que le cytoplasma est rempli de petites granulations sidérophiles et que la plupart de ces cellules possède deux ou même trois noyaux.

### L'agent transmetteur.

LAFONT, ayant vu que les hôtes permanents des Euphorbiacées étaient de minuscules Hémiptères, a cherché dans ces insectes les *Leptomonas*.

Une seule espèce, le *Nysius euphorbiae*, possédait des *Leptomones* dans leur intestin ce qui a porté LAFONT à la considérer comme étant le transmetteur de l'infection (3).

Plus tard (5) il a fait des expériences qui l'ont convaincu que le *Nysius euphorbiae* était en effet le transmetteur. Il a placé deux plantes, l'une parasitée et l'autre indemne, sous un châssis métallique avec 50 *Nysius* ayant jeuné 48 heures. Au bout de 16 jours la plante indemne commença à être parasitée.

Isolant sous une cage métallique pendant plus de trois mois 7 individus robustes de *E. pepplus* avec des centaines de *Nysius*, LAFONT a vu que les plantes sont restées indemnes.

Ces expériences démontrent simplement que les *Nysius* peuvent transporter l'infection d'une plante à l'autre.

Au Dahomey, BOUET et ROUBAUD ont vu (4) que *E. pilulifera* est la plante nourricière de nombreux hémiptères le plus répandu desquels est un Lygeïde, *Dieuches humilis* REUTER. Examinant une vingtaine de ces Hémiptères ils ont trouvé chez l'un (une nymphe) des Flagellés en assez grand nombre. Les parasites ne se trouvaient ni dans la lumière de la trompe, ni dans les glandes salivaires.

Sur 10 *Dieuches* nourris pendant 8 jours sur des plantes parasitées, 2 ont présenté des parasites. BOUET et ROUBAUD ont réussi à transmettre la maladie à une Euphorbe saine employant 80 hémiptères qui ont été nourris pendant huit jours sur des plantes fortement parasitées.

Les expériences de LAFONT et de BOUET et ROUBAUD démontrent seulement que les insectes qu'ils ont employé dans leurs expériences peuvent convoier l'infection d'une plante malade à une plante saine. Si, comme tout le semble démontrer, l'insecte doit être l'hôte primitif des Flagellés, aucun des Hémiptères incriminés jusqu'à ce jour ne doit être l'agent transmetteur de l'infection. Le faible pourcentage d'insectes parasités par des Leptomonas, l'absence des parasites dans les glandes salivaires et dans la lumière de la trompe, l'insuccès des expériences faites avec les insectes pris dans la nature, plaident contre le rôle d'agent de l'infection attribué à ces Hémiptères.

Depuis 1911 nous avons cherché, sans résultat, l'agent transmetteur de la Flagellose des Euphorbiacées.

Sur *E. peplus* nous avons trouvé à plusieurs reprises deux espèces d'Hémiptères qui ont été déterminés par le Dr. G. HORVATH de Budapest, le *Stenocephalus agilis* SCOP. et le *Brachypelta aterrima* FORST. Les *Stenocephalus* vivent en grand nombre sur *E. peplus*, et les *Brachypelta* qui, comme le Dr. HORVATH le fait remarquer (13), se trouvent au pied des plantes sous les feuilles sèches, aux heures de soleil se rencontrent sur *E. peplus* et sur d'autres plantes, en grand nombre.

C'est en vain, que nous avons cherché dans l'appareil digestif de ces insectes des Leptomonas.

Les expériences de transmission avec ces Hémiptères, ayant été nourris sur des *E. peplus* infectées, ont donné également des résultats négatifs.

Mais le plus extraordinaire c'est que sur l'espèce d'Euphorbiacée le plus souvent infectée, *E. segetalis*, nous n'avons jamais trouvé le seul Hémiptère ni pendant la journée ni pendant la nuit et que même mis en contact avec ces plantes ni les *Stenocephalus*, ni les *Brachypelta* se nourrissent sur elles.

Comme l'habitat du *Lygaeus militaris* F. est sensiblement celui de la Flagellose, et comme après les travaux de PATTON on sait que cet Hémiptère est parasité par une Herpetomone, nous avons cherché chez quelques *Lygaeus* du Portugal des Flagellés, mais sans résultat.

Nous avons trouvé en Mai 1911 une Leptomone, en abondance, chez des *Pyrrochoris apterus* du Nord du Portugal.

Cette Leptomone a été minutieusement décrite en 1912 par G.H. ZOTTA qui l'a nommée *Herpetomonas pyrrochoris*. Nous avons pensé que cette Leptomone serait *L. davidi*.

En effet *Pyrrochoris apterus* est, d'après ZOTTA, prodigieusement infecté par les Leptomonas et les parasites se trouvent non seulement dans l'intestin moyen et postérieur mais aussi dans la cavité générale, dans le liquide sanguin, dont l'aspect est modifié, et dans les glandes salivaires de l'insecte. Nous avons pu retrouver la Leptomone du *Pyrrochoris* en de nombreux exemplaires de ces insectes capturés en Septembre 1913, et nous avons vu qu'ils peuvent se nourrir du latex de *E. peplus*, mais seulement quand ils sont affamés.

Au contraire ils ne se nourrissent du latex de *E. segetalis*, même quand ils sont à jeun depuis longtemps.

Des *E. peplus* ayant servi pour l'alimentation de quelques *Pyrrochoris*, n'ont jamais présenté des Leptomonas.

En résumé, nous n'avons trouvé jusqu'à présent l'hôte animal de *Leptomonas davidi* et nous croyons qu'il n'a pas encore été découvert par d'autres observateurs.

### Immunité.

Des travaux récents sur l'immunité chez les plantes tendent à prouver que les végétaux se défendent contre leurs envahisseurs par des moyens qui ne diffèrent essentiellement de ceux employés par les animaux.

En effet on a observé non seulement une immunité humorale, mais même une défense par un processus qu'on peut identifier à la réaction phagocytaire. Seulement comme dans les plantes il n'existent pas de cellules mobiles, cette phagocytose existe uniquement dans les maladies ayant un agent susceptible de traverser la membrane cellulosique. On observe alors ce que GALLAUD a appelé une „phagocytose sur place“. Les cellules spécialisées dans cette fonction digestive sont pourvues de noyaux multilobés.

Dans la Flagellose, puisque que les Leptomonas sont cantonnées dans les vaisseaux laticifères et qu'elles n'envahissent pas les cellules, la seule défense de la plante que nous puissions admettre serait au moyen d'une substance capable de déterminer la mort du parasite. Mais cette immunité humorale n'existe pas évidemment dans la Flagellose vu que dans la même plante, à côté de branches qui guérissent en conséquence de la mort du parasite, il y en a d'autres chez lesquelles le parasite continue à se multiplier de sorte à déterminer la mort de la partie malade.

On peut même trouver dans la même branche deux laticifères un desquels ayant des formes normales et l'autre des formes dégénérées. Dans nos expériences d'inoculation de *Leptomonas davidi* nous avons pu donner la maladie à un petit rameau indemne d'une Euphorbe infectée.

Il ne doit donc exister aucune substance capable d'arrêter la multiplication de la Leptomone et nous n'avons pu observer le plus léger indice de défense du côté de la plante.

Les parasites dégénèrent et meurent en conséquence des conditions créés, par eux mêmes, au latex dans lequel ils vivent.

Des conditions d'immunité pourront exister tant que latex ne reprend pas sa composition primitive, mais l'immunité qui en résulte ne représente pas une défense de l'organisme.

Collares, Novembre 1913.

### Bibliographie.

- 1) A. LAFONT: Sur la présence d'un parasite de la classe des Flagellés dans le latex de l'Euphorbia pilulifera. Extrait des Compt. rend. de la Soc. de Biol. T. 66 p. 1011, 1909.
- 2) C. DONOVAN: Kala-Azar in Madras, especially with regard to its connexion with the dog and the Bug (Conorrhinus). The Lancet 20 Novembre 1909.
- 3) A. LAFONT: Sur la présence d'un Leptomonas, parasite de la classe des Flagellés, dans le latex de trois Euphorbiacées. Extrait des Annales de l'Institut Pasteur T. 24, Avril 1910.
- 4) G. BOUET et E. ROUBAUD: Sur la présence au Dahomey et le mode de transmission du Leptomonas davidi LAFONT, Flagellé parasite des Euphorbiacées. Extrait des Compt. rend. Soc. de Biol. T. 70 p. 55, 1911.
- 5) A. LAFONT: Sur la transmission du Leptomonas davidi des Euphorbes par un Hémiptère, Nysius euphorbiae. Extrait Compt. rend. Soc. de Biol. T. 70 1911.

- 6) F. NOC et L. STÉVENEL: Présence à la Martinique de *Leptomonas davidi* LAFONT. Bull. Soc. Path. Exotique T. 4 No. 7, 1911.
- 7) A. LAFONT: Observations sur *Leptomonas davidi*. Bull. Soc. Path. Exotique T. 4 No. 7, 1911.
- 8) J. RODHAIN et J. BEQUAERT: Présence de *Leptomonas* dans le latex d'une Euphorbe congolaise. Bull. Soc. Path. Exotique T. 4 1911.
- 9) C. FRANÇA: Sur l'existence en Portugal de *Leptomonas davidi* LAFONT dans le latex de *Euphorbia peplus* L. et *E. segetalis* L. Bull. Soc. Path. Exotique T. 4 No. 8, 1911.
- 10) ANDRÉ LÉGER: Présence de *Leptomonas davidi* LAFONT dans l'*Euphorbia pilulifera* du Haut Sénégal et Niger. Bull. Soc. Path. Exotique T. 4 1911.
- 11) C. FRANÇA: Quelques notes sur *Leptomonas davidi* LAFONT. Bull. Soc. Path. Exotique T. 4 No. 10, 1911.
- 12) A. LAVERAN et F. MESNIL: La Flagellose des Euphorbes in Trypanosomes et Trypanosomiasés. Paris 1912.
- 13) F. MESNIL: Hémiptères des Euphorbes parasitées de *Leptomonas davidi*. Bull. Soc. Path. Exotique T. 4 No. 5, 1913.
- 14) W. S. PATTON: *Herpetomonas lygaei*. Arch. f. Protistenk. Bd. 13 1908.
- 15) MURIEL ROBERTSON: Further notes on a Trypanosome found in the alimentary tract of *Pontobdella muricata*. The Quart. Journ. of Micr. Science Vol. 54 Part I, September 1909.
- 16) ANNIE PORTER: The Life-cycle of *Herpetomonas jaculum* (LÉGER) parasite in the alimentary tract of *Nepa cinerea*. Parasitology Vol. 2 No. 4, 1910.
- 17) DORIS L. MACKINNON: *Herpetomonas* from the alimentary tract of certain dung-flies. Parasitology Vol. 3 No. 3, 1910.
- 18) C. M. WENYON: Oriental Sore in Bagdad, Together with observations on a Gregarine in *Stegomyia fasciata*, the Haemogregarine of Dogs and the Flagellates of House Flies. Parasitology Vol. 4 No. 3, 1911.
- 19) GH. ZOTTA: Sur un Flagellé du type *Herpetomonas* chez *Pyrhocoris apterus*. Ann. Scient. de l'Université de Jassy T. 7 3<sup>e</sup> fasc., 1912.
- 20) A. ALEXEIEFF: Introduction à la révision de la famille Herpetomonadidae (= Trypanosomidae DOFLEIN 1911). Arch. f. Protistenk. Bd. 29 1913.

### Explication de la Planche 5.

Figs. 1 à 30. *Leptomonas davidi*.

Figs. 1 à 14. Formes normales. Coloration à l'hématoxyline au fer.

Figs. 15 et 16. Scision postérieure du cytoplasma. Coloration à l'hématoxyline.

Fig. 17. Grain d'amidon du latex.

Figs. 18 à 20. Formes normales. Coloration par le GIEMSA.

Figs. 21 à 30. Formes dégénérées.

Fig. 21. Forme à blépharoplaste atrophiée.

Figs. 22, 23 et 26. Formes à blépharoplaste hypertrophiée.

Figs. 27 et 28. Formes de division. Une des formes filles est dégénérée.

Fig. 29. Forme géante, à deux noyaux.

Fig. 30. Forme à deux noyaux.

Figs. 31 et 32. Tige de *Euphorbia segetalis pinea* (L.) montrant le point d'inoculation de la Flagellose, l'accident primaire.

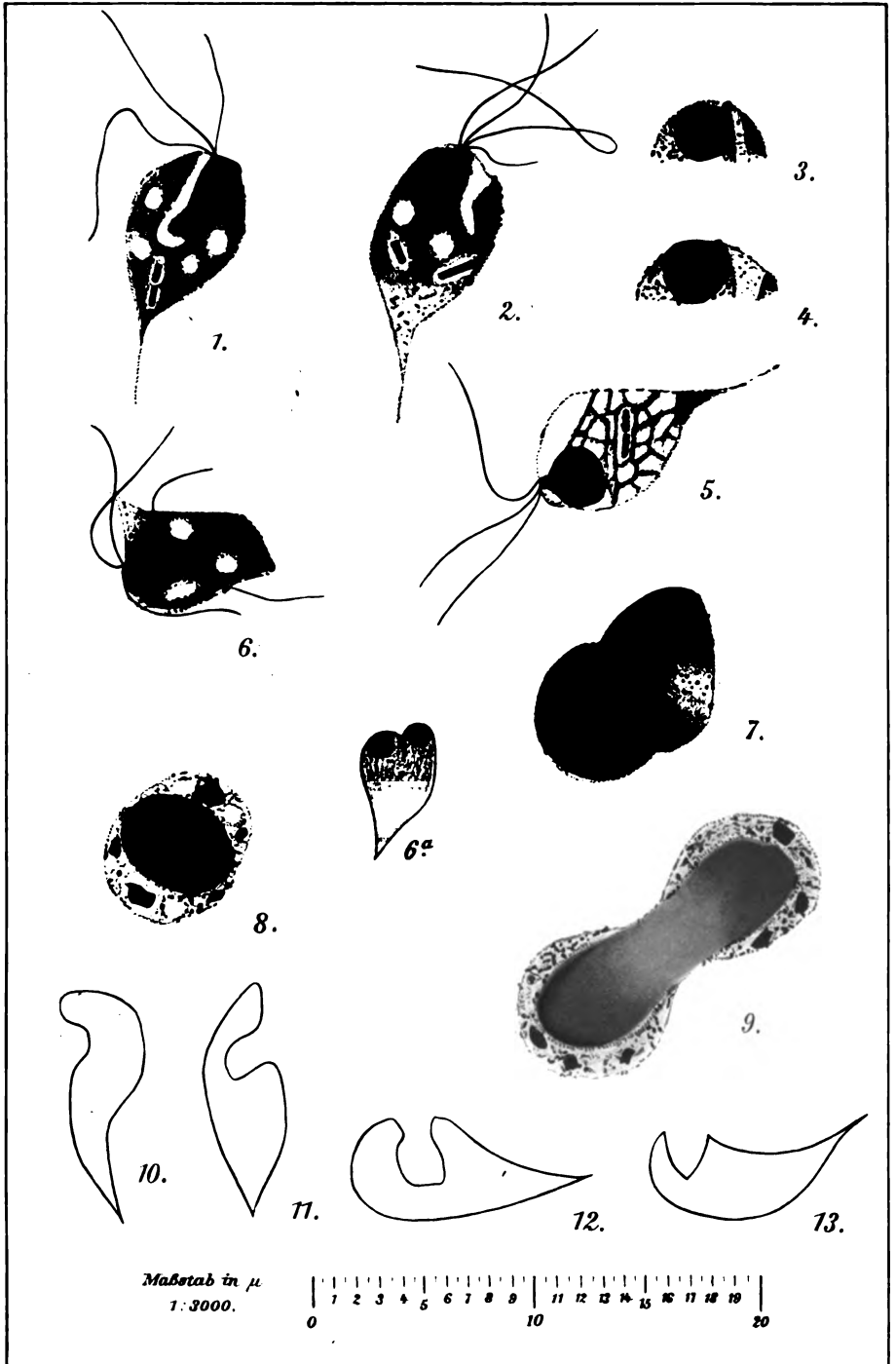
Fig. 33. Coupe de tige de *E. segetalis* infectée. On voit un laticifère, le seul infecté de cette tige, contenant de nombreuses Leptomonas colorées en rouge. Coloration par la méthode panoptique de PAPPENHEIM.

Fig. 34. Coupe d'un rameau infecté. A l'intérieur d'un laticifère on voit un embolus de Leptomonas. Hematoxyline ferrique.

Fig. 35. Coupe d'un rameau infecté. Section longitudinale d'un laticifère contenant des Leptomonas et des masses de coagulation. Hematoxyline ferrique.

Fig. 36. Coupe de l'accident primaire. Coloration par la méthode de CHODAT.

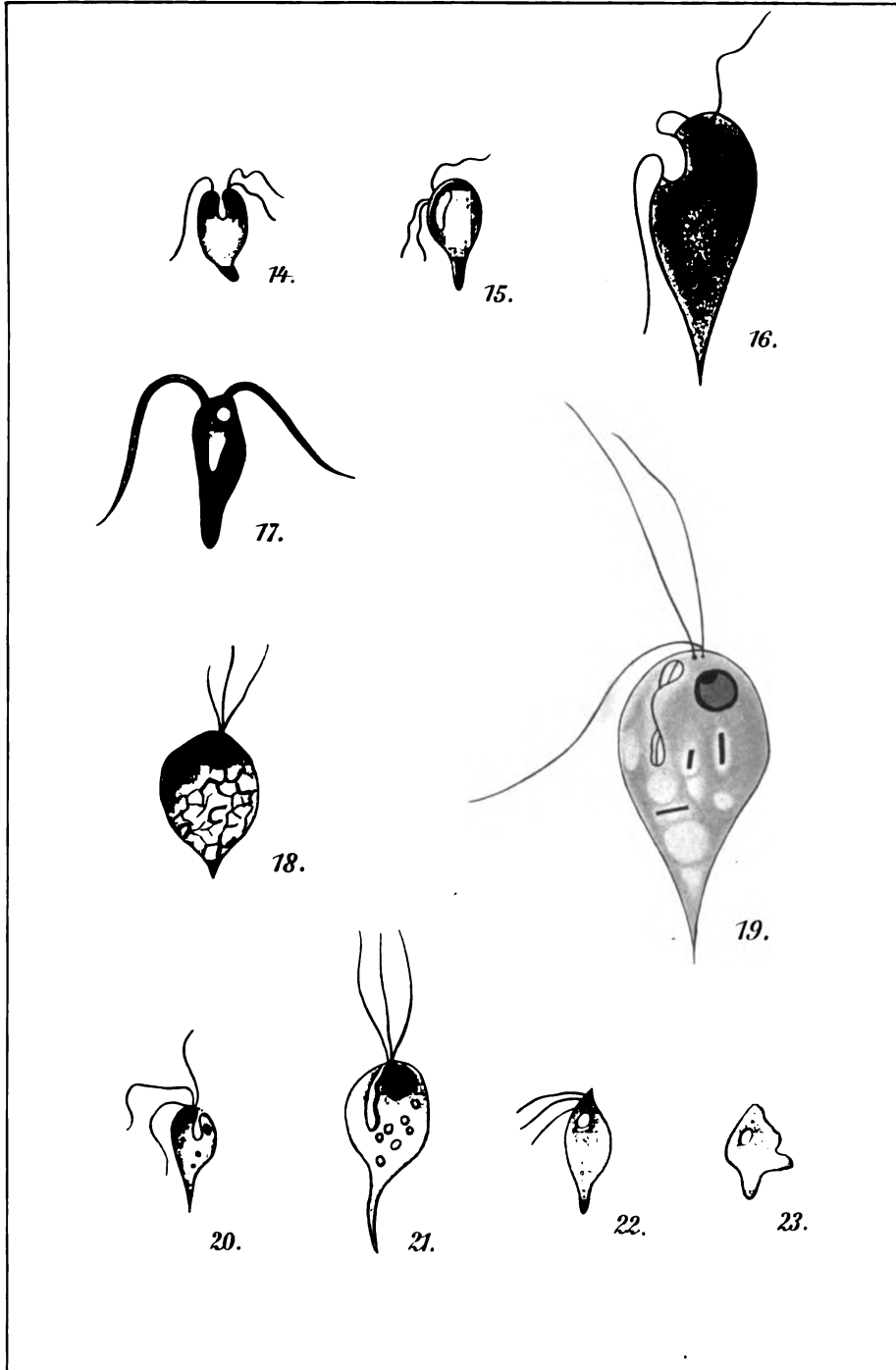
La figures 31 et 32 de cette planche ont été dessinées par notre collègue le Docteur PEREIRA DE CARVALHO, toutes les autres figures nous les devons à l'habileté de notre ami FRANCISCO DE MIRANDA à qui nous témoignons notre plus sincère gratitude.





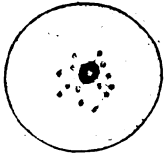


1882.









1.



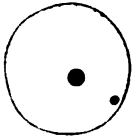
2.



3.



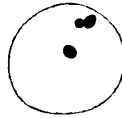
4.



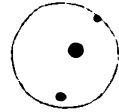
10.



11.



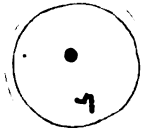
12.



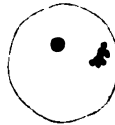
13.



19.



20.



27.



22.



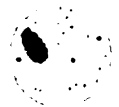
27.



28.



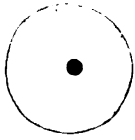
28 a.



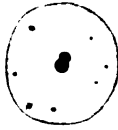
29.



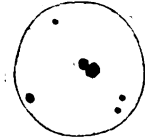
5.



6.



7.



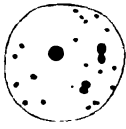
8.



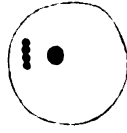
9.



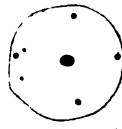
14.



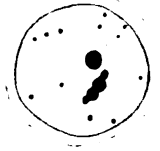
15.



16.



17.



18.



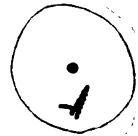
23.



24.



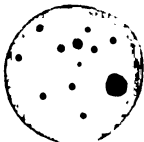
25.



26.



30.



31.



32.



33.

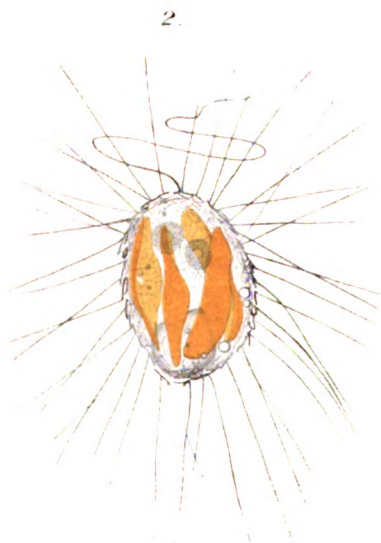
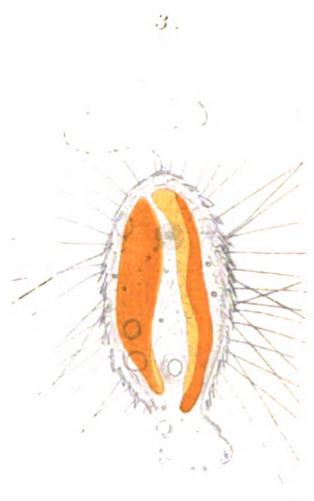
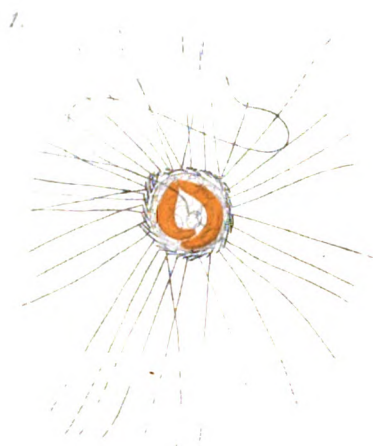
1  
1  
1  
1

1

1







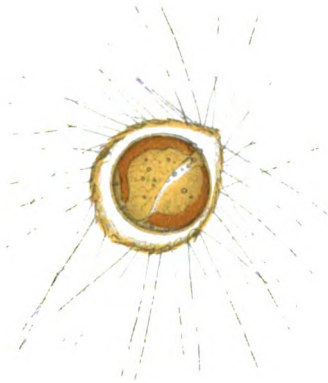
5.



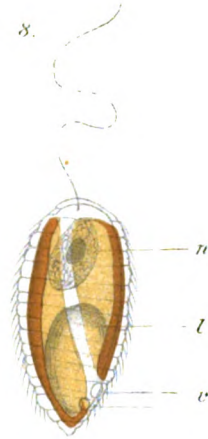
6.



7.

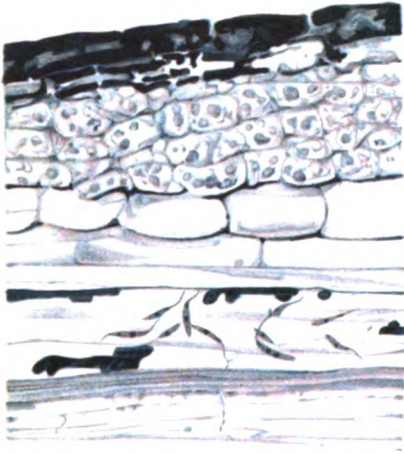


8.

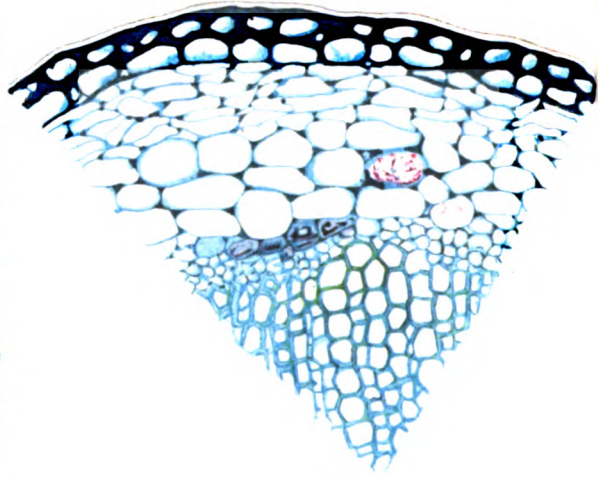








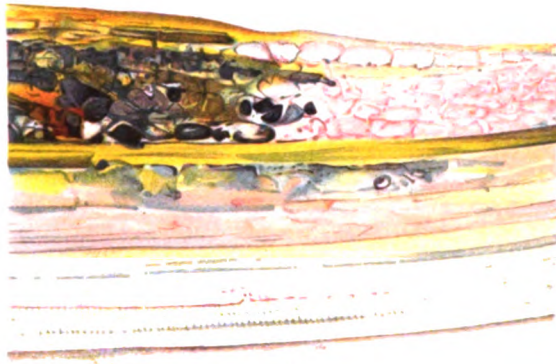
35



33



31



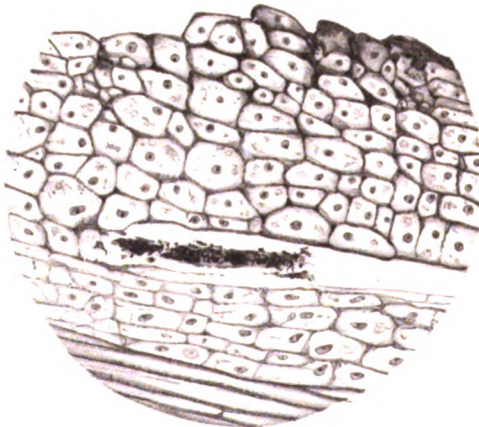
36



32



19



34

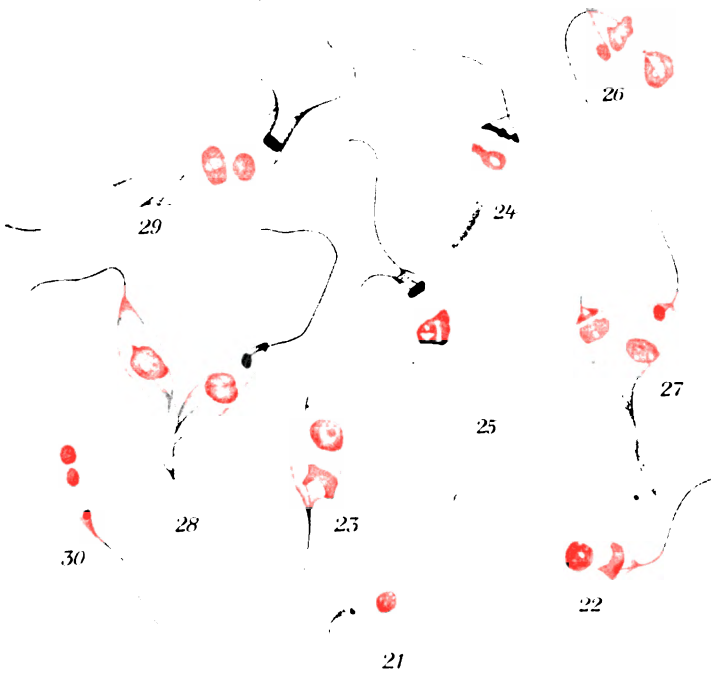


20



18

*E. Miranata del*





*Nachdruck verboten.  
Übersetzungsrecht vorbehalten.*

(Aus dem Königl. Institut für Infektionskrankheiten „ROBERT KOCH“  
in Berlin, Protozoenabteilung.)

## **Über Kernteilung und Fortpflanzung von *Cercobodo agilis* (MOROFF) emend. SENN.**

Von

**Kurt Nägler.**

(Hierzu Tafel 6.)

Bei der Untersuchung der Microfauna und -Flora eines im Freien, auf dem hohen Elbufer an der Schlangengrube bei Roßlau stehenden Steintrogos wurden gefunden: zahlreiche Chlamydomonaden, die das Wasser vollkommen grün färbten, einzelne Vorticellen, *Limax*-Amöben und ein zweigeißeliges Flagellat, das in der Kahlhaut nur vereinzelt zunächst zu finden war.

In den angelegten Kulturen in flachen Petrischalen und hohen Standgläsern encystierten sich die Chlamydomonaden nach sehr kurzer Zeit. In dem pflanzlichen Detritus vermehrten sich die erwähnten Flagellaten stark und die Kernteilung und Fortpflanzung dieser Art konnte daher leicht verfolgt werden. Es handelt sich um die von MOROFF (1904) als *Dimastigamoeba agilis* n. sp. beschriebene



Art, die von SENN (1910) zur Gattung *Cercobodo* KRASSILSTSCHICK hinzugezogen wurde.<sup>1)</sup>

Nach MOROFF wird die Art folgendermaßen charakterisiert. Die Größe beträgt etwa 10—14  $\mu$ . Meist herrscht ein amöboider Zustand vor mit vielen oft verästelten und fein ausgezogenen Pseudopodien. Die Schleppeiße ist etwas länger als die Schwimmgeißel. Der Kern liegt im Vorderende des Körpers, das oft rüsselartig vorgestreckt sein kann. Die Fortpflanzung geschieht durch Längsteilung im amöboiden Zustande.

Die Größe der von mir beobachteten Form überschreitet oft das von MOROFF angegebene Maß, da die Pseudopodien sich nach allen Seiten ausbreiten können. Man kann wohl zwei Stadien dieser *Cercobodo*-Art unterscheiden, einmal das in Fig. 1 u. 2 abgebildete Stadium, das mehr an eine Amöbe erinnert, und die in Fig. 3 dargestellte Form, die das Flagellat bei der Schwimmbewegung annimmt. Das Plasma ist sehr beweglich und leichtflüssig, sofern es nicht von gefressenen Chlamydomonaden angefüllt war, auch sehr durchsichtig. Wenn das Tier zur Ruhe kommt, d. h. auf einem Orte längere Zeit verharret, so heftet es sich gewissermaßen mit seinen Pseudopodien fest, die, wie in Fig. 2 besonders gut zu sehen, am Ende anschwellen und eine dreieckige Form annehmen können. Auf den Präparaten sind diese Pseudopodien sehr hyalin und nur bei genauem Beobachten wahrnehmbar. Beim Beginn des Schwimmens werden die Pseudopodien eingezogen und es bleibt dann gewöhnlich nur noch eines erhalten (Fig. 3), das an einem dünnen langen Plasmafaden nachgeschleppt wird. Der Übergang vom amöboiden Zustand zur Schwimmform ist dargestellt in Fig. 5. Beim Fixieren tritt gewöhnlich Abkuglung ein, wie in Fig. 4 abgebildet, ebenso auch bei den nachfolgenden Teilungsstadien. Wenn man indessen die Fixierung plötzlich und mit einer heißen Flüssigkeit vornimmt, so gelingt es meistens, das Tier in ausgestrecktem Zustande zu erhalten.

Der Kern liegt am Vorderende des Tieres. Er enthält einen großen kompakten Binnenkörper, eine breite Kernsaftzone, die mit reichlichem Außenchromatin angefüllt ist. Die Kernmembran ist gewöhnlich nach der Ansatzstelle der beiden Geißeln zu ausgezogen. Die

<sup>1)</sup> Den Ausführungen LEMMERMANN'S (1913) über die Nomenklaturfrage betreffs *Cercomonas* DUJ. und *Cercobodo* KRASSILST. glaube ich mich dahingehend anschließen zu können, daß die Gattung *Cercomonas* als nicht identifizierbar zu streichen ist. Zu *Cercobodo* gehören dann noch: *C. longicauda* (STEIN) SENN, *C. crassicauda* (ALEXEIEFF) LEMM., *C. alexeieffi* LEMM. und *C. laciniatereus* KRASS.

Geißeln inserieren an zwei Basalkörnern, die hart am Rande des Protoplasmas liegen. In Fig. 1 zieht auch noch eine dünne Centrosome von der Ansatzstelle zum Caryosom. Bei einigen Individuen wurde ein etwas komplizierterer Geißelansatz beobachtet (s. Fig. 3). Hinter den Basalkörnern liegen noch zwei größere, runde, stark färbare Körner direkt auf der Kernmembran auf. Meist ist diese aufgelagerte Chromatinmasse nicht in distinkten Körnern vorhanden, sondern mehr länglich und unregelmäßig gestaltet (Fig. 4–6), so daß nur Verdickungen der Kernmembran am vorderen Ende zu sehen sind. Die Basalkörner oder das Basalkorn, das nach Abwerfen der Geißeln beim Beginn der vegetativen Teilung durch Verschmelzung wahrscheinlich entsteht, treten als Teilungsorganoide, Centriole, in Funktion. Der Kern nimmt zunächst an Volumen zu und lockert sich auf. Der Binnenkörper wird durch heteropole Abschnürungen in eine große Anzahl kleiner Chromatinbrocken zerlegt (Fig. 6 u. 7), die zunächst unregelmäßig im Kern liegen (Fig. 8 u. 9).

In Fig. 10 ist die Auflösung der Kernmembran deutlich zu erkennen an dem abgewandten Ende zu. Eine einwandfreie Centrosome zerteilt den Kern. Die Chromatinmasse hat sich in Form einer breiten Äquatorialplatte angesammelt. Der weitere Verlauf der Kernteilung scheint nun unregelmäßig vor sich zu gehen, ohne Ausbildung von besonderen Tochterplatten. Die Chromatinmasse wird geteilt und unregelmäßige Chromatinansammlungen sind nur noch in den getrennten Tochterkernen zu erkennen (Fig. 11–13).

In Fig. 12 ist das Chromatinmaterial der Tochterkerne zu zwei kompakten, teils runden, teils gekrümmten Binnenkörpern bereits wieder verbunden. Die Centriole scheinen über die Binnenkörper hinaus zu ragen und rücken zur Ausbildung der neuen Geißeln wieder an die Zellperipherie. In Fig. 13 hängen die Tochterkerne noch durch einen langen Verbindungsfaden zusammen; das strahlenförmig angeordnete Chromatin fließt nach innen zu einem Binnenkörper zusammen. Die Basalkörner liegen bereits an der Peripherie. In Fig. 14 setzt die Zellteilung ein und in Fig. 15 ist diese fast beendet. Die Rekonstitution der Tochterkerne schreitet weiter vor sich und der normale Bau des Kernes wird erreicht.

Einen ähnlichen Verlauf der Kernteilung bei einem *Cercobodo spec.* bildet HARTMANN (1913) ab. Die Figur der Kernteilung erstreckt sich hier quer durch die ganze Zelle; an den Enden der Spindel liegen die Basalkörner, die durch eine lange, überaus deutlich wahrnehmbare Centrosome verbunden sind.

Den merkwürdigen Bau des Geißelapparates treffen wir in noch

komplizierterer Form an bei *Dimastigamoeba (Cercobodo!) bistadialis* nach PUSCHKAREW (1913). Der Geißelkegel wandert im Plasma und erscheint in Form eines „trapezförmigen Gebildes“, dessen Bedeutung noch nicht aufgeklärt ist. Von den hinter den Basalkörnern liegenden größeren, stark färbbaren Körnern verlaufen einmal zwei Fibrillen zum Caryosom, und ferner im Plasma seitlich vom Kern auch fibrilläre Strukturen, die den Eindruck eines Aufhängeapparates für den Kern machen. Bei dieser Art können die Geißeln abgeworfen werden und es erfolgt dann der Übergang in ein Amöbenstadium.

Endlich weise ich noch auf den fast analogen Verlauf der Kernteilung bei *Monas termo* nach MARTIN (1912) hin, wobei in den Fig. 5—7 deutlich ebenfalls die Basalkörner die Rolle von Centriolen übernehmen und die Centrodosome sich auch über die ganze Zelle erstreckt. Bei der von mir (1912) beschriebenen Kernteilung bei *Monas gelatinosa* treten polare Basalplatten auf, denen noch je ein Basalkorn vorgelagert sein kann. Diese Form erinnert gemäß der Kompliziertheit des Geißelapparates an *Cercobodo (Dimastigamoeba) bistadialis*.

Wenn ich nun noch mit kurzen Worten auf eine Arbeit von ALEXIEFF (1913) eingehe, so geschieht dies, um auf die innere Haltlosigkeit seines Systems der Kernteilungen hinzuweisen. Ganz abgesehen davon, daß er einfach positive und nicht mehr wegzuleugnende Angaben über Centriole, beispielsweise bei den *Vahlkampfia* (syn. *Naezleria*)-Arten und den Entamöben nicht beachtet, so trägt seine Aufzählung und Einteilung schon deswegen einen überaus gekünstelten und verwirrenden Charakter, da er nur zu einseitig seine eigenen Angaben auf nur einen Kernteilungsmodus einer Art stützt. Ferner sind alle die Fälle, in denen Basalkörner die Rolle von Centriolen übernehmen können, nicht mit einbegriffen (vgl. *Trichomonas, Cercobodo, Monas*) und nicht gemäß der nahen Verwandtschaft solcher Formen gewürdigt.

Wir finden meines Erachtens noch einen neuen Stützpunkt für die Bedeutung von Kernteilungsorganoiden innerhalb oder außerhalb des Kernes darin, daß ein Basalkorn auch von außen her die Kernteilung einleiten kann. Die Centriole im Caryosom oder extracaryosomal fungieren im Kern auslösend auf die Kernteilung. Sind sie nicht innen vorhanden, so müssen wir sie außen suchen, und selbst in den Fällen, wo sie scheinbar nicht kompakt in die Erscheinung treten — in vielen Fällen werden sie nur übersehen oder auf Grund vorgefaßter Meinungen hinweg gedeutet —, müssen wir an dem Postulat eines Organoides festhalten, welches die Kernteilung

einleitet. In einem solchen Falle, wie bei der Kernteilung der Euglenen, wo ich auch geneigt bin, kein deutliches Centriol mit ausgesprochener Centrodosome anzunehmen, ferner bei *Chilomonas* (NÄGLER 1912), bleibt uns keine andere Möglichkeit übrig, die Längsstreckung oder Auflösung des Binnenkörpers als von innen heraus verursacht uns vorzustellen. Etwas anderes ist es, ob nun dabei in jedem Falle deutliche Teilungszentren (Centriole) auftreten, die vielleicht nur in einigen Fällen ihr Vorhandensein durch die Centrodosome erweisen, in anderen Fällen dagegen für unsere Methodik unsichtbar wirken.

### Literaturverzeichnis.

- ALEXEIEFF, A. (1913): Systématisation de la mitose dite „primitive“. Sur la question du centriole. Arch. f. Protistenk. Bd. 29.
- HARTMANN, M. u. SCHÜSSLER, H. (1913): Flagellata. In: Handwörterbuch d. Naturwissenschaften Bd. 3 (Fischer, Jena).
- LEMMERMANN, E. (1913): Notizen über Flagellaten. Arch. f. Hydrobiol. u. Planktonkunde Bd. 8.
- MARTIN, C. H. (1912): A Note on the Protozoa from Sick Soils, with some Account of the Life-cycle of a Flagellate Monad. Proc. Roy. Soc. Vol. 85.
- MOROFF, TH. (1904): Beitrag zur Kenntnis einiger Flagellaten. Arch. f. Protistenk. Bd. 3.
- NÄGLER, K. (1911): Der gegenwärtige Stand unserer Erkenntnis von der Zelle als Grundelement des Lebenden. Energide und Energie. Ann. f. Naturphilos. Bd. 11.
- (1912a): Über Kernteilung und Fortpflanzung von *Monas gelatinosa* n. sp. Arch. f. Protistenk. Bd. 27.
- (1912b): Ein neuartiger Typus der Kernteilung bei *Chilomonas paramaecium*. Arch. f. Protistenk. Bd. 25.
- PUSCHKAREW, P. A. (1913): Über die Verbreitung der Süßwasserprotozoen durch die Luft. Arch. f. Protistenk. Bd. 28.

### Tafelerklärung.

Sämtliche Figuren sind bei ZEISS Imm. 0.2 mm und dem Comp.-Oc. 12 mit dem Abbé'schen Zeichenapparat entworfen. Die Figuren sind nach mit Sublimatalkohol fixierten und mit Eisenhämatoxylin oder Hämatoxylin nach DELAFIELD gefärbten Deckglaspräparaten gezeichnet.

#### Tafel 6.

Fig. 1—15. *Cercobodo agilis* (MOROFF) emend. SENN.

Fig. 1, 2 u. 5. Amöboide Formen.

Fig. 3. Flagellatentypus bei schwimmender Bewegung; Geißelapparat.

Fig. 4. Kurze, gedrungene Form.

Fig. 6—9. Beginnende Vergrößerung und Auflockerung des Kernes bei der Teilung.

Fig. 10. Das Basalkorn fungiert bei der Teilung als Centriol; Äquatorialplatte.

Fig. 11. Die Tochterkerne mit noch aufgelockertem Chromatin.

Fig. 12 u. 13. Rekonstitution der Tochterkerne.

Fig. 14 u. 15. Zellteilung.

Nachdruck verboten.  
Übersetzungsrecht vorbehalten.

**Cytological studies on three species of  
*Amoeba* — *A. lacertae* HARTMANN, *A. glebae* n. sp.,  
*A. fluvialis* n. sp.**

By  
**Clifford Dobell.**

Fellow of Trinity College, Cambridge; Lecturer at the Imperial College of Science,  
London S. W.

(With Plates 7—11.)

**Contents.**

	page
Introduction . . . . .	140
Methods . . . . .	142
I. <i>Amoeba lacertae</i> HARTMANN . . . . .	146
Material . . . . .	146
Morphology, etc. . . . .	147
Division . . . . .	148
Encystation . . . . .	151
Critical remarks . . . . .	153
II. <i>Amoeba glebae</i> n. sp. . . . .	160
Material . . . . .	160
Morphology, etc. . . . .	160
Division . . . . .	161
Encystation . . . . .	168
Remarks . . . . .	169
III. <i>Amoeba fluvialis</i> n. sp. . . . .	170
Material . . . . .	170
Morphology, etc. . . . .	171
Division . . . . .	173
Remarks . . . . .	179
Concluding Reflections and Comments . . . . .	180
Literature . . . . .	185
Description of Plates . . . . .	187

### Introduction.

During the last few years, a great many memoirs dealing with the nuclear divisions of amoebae have made their appearance. These memoirs deal not merely with observed facts, but very largely also with hypotheses which have been based upon them — with problems of division in general, with nomenclature, with classification, with evolution, and with other even more remote topics. Many “reforms” have been proposed — reforms which, to me at least, appear to consist chiefly in the introduction of new and often strange generic names for familiar organisms, or of ponderous and cacophonous designations for the different methods of nuclear division which have been described — the actual existence of which seems, in many cases, to be disputed by everybody except the describer.

It is unfortunately true, at the present moment, that the name — “Chaos” — given to an amoeba by LINNAEUS, aptly describes the condition of our knowledge of the whole group. And the almost appalling picture of the complexity of nuclear division in amoebae which recent work has portrayed, forms a peculiar pendant to the familiar diagram of that fabulous organism which — under the name of “the amoeba” — still divides by a delightfully simple process on the pages of every elementary text-book of biology.<sup>1)</sup>

The cause of all the confusion which now prevails is fairly obvious. More facts are wanted, and less hypothesis and guesswork. One does not need to study very profoundly the recent literature dealing with amoebae to discover that what, for one author, are facts of such fundamental importance as to justify his making a sweeping generalization, are, for another, mere blunders due to faulty technique, observation, or interpretation. It would be impossible, I believe, for anybody who does not possess a first-hand knowledge of a large number of amoebae, to discover, from reading the published accounts, the real facts concerning the division of the nucleus in any single species which has been described.

It seems to me, therefore, essential that, before any further discussions or generalizings based upon the nuclear divisions of

---

<sup>1)</sup> I believe that these diagrams of dividing “amoebae” are descended — so far as they owe their existence to anything but imagination — from the figures of *A. polyptodia* published by F. E. SCHULZE in 1875. It will be remembered that these were sketched from a single case of division which was observed in a living organism.

amoebae are put forward, a certain basis of fact should be established. The main object of the present paper is, accordingly, to contribute something towards the establishment of the facts of nuclear division in amoebae, and not to uphold or controvert any particular hypothesis connected with this problem.

In the following pages I have used the old-fashioned generic name "*Amoeba*" for all the organisms which I have described. In view of the fact that the entire life-cycle is not yet indisputably established in the case of any single "species" of amoeba, it appears to me somewhat premature to introduce new names based entirely upon the fragments of life-cycles which are "known" — this "knowledge" itself being in many cases of very doubtful value. Still less can I follow those who, not content with a new generic name for each amoeba which displays a distinct type of nuclear division, would also distinguish this division itself by a new name. That new names of this sort may someday be necessary or advantageous, I do not for a moment dispute.

I shall not attempt to analyse the various hypotheses which recent writers on the nuclear divisions of amoebae have put forward, nor shall I try to summarize all the recent literature on this subject. At present, the facts appear to me to be too uncertain for such a work to be undertaken with profit.

In the course of the last seven years I have attempted to work out in minute detail the nuclear divisions in a number of different amoebae. In most cases I have not succeeded. In the present paper I shall describe the nuclear division of three different species, which present three quite different types of the process. These are the only species in which I have succeeded in obtaining a complete series of stages in my preparations. Details concerning encystation I can add in the case of two of these amoebae.

In reading the accounts of nuclear division in amoebae which others have published, I have often been struck by the incompleteness of the descriptions and figures given. In many cases, indeed, the figures do not form a consistent series: and the transition from one stage to that supposed to succeed it is often so abrupt as to raise doubts in my mind as to the correctness of the accounts which are given. I have therefore endeavoured to give sufficient figures of the forms which I describe to prevent a similar charge being laid against the present work. But how far I have succeeded in this, I must now leave it to the indulgence of the reader to decide.



### Methods.

Before I describe my results, I will say a few words about the methods which I have employed to attain them. The source of my material will be found under the several headings of the detailed descriptions which follow.

I have studied altogether more than a dozen different species of free-living amoebae. Some of these have been obtained from infusions of soil, hay, and other organic substances; others from fresh water; others again from sea water. The methods which I have used for cultivating these various forms have therefore been of various kinds. I will here merely record the culture methods which have been successful in the cases of those organisms which I am about to describe. It is, of course, necessary in the case of every form to discover at the outset the particular medium which is best suited to it; and to discover what it eats, and then take care that it is properly fed. Many of the smallest species of *Amoeba* will thrive on a diet of bacteria, and they are — as a rule — easily cultivated in hay infusion or a dilute solution of egg albumin. I have found these two culture media the most generally useful.

I have never obtained satisfactory results with solid culture media — such as agar. The organisms from such cultures have often appeared to me to be more or less abnormal.

In my experience, the small amoebae grow most plentifully in mixed cultures — especially in those containing ciliates which eat bacteria. This is probably because the ciliates prevent the bacteria from increasing in numbers too rapidly, and so causing the medium to become foul.

Of the organisms described in the following pages, the first — *A. lucertae* — was grown in no culture media. It was studied in its natural environment in the gut of the lizard. The second — *A. glebae* — was cultivated in both hay infusion and dilute albumin. And the third — *A. fluvialis* — was cultivated in river water and hay infusion. A very dilute sterilized solution of the latter was added to the river water and mud in which the organisms were found. The amoebae lived in this culture for only a few days, and were then rapidly replaced by a number of other protozoa.

All the organisms were, of course, studied in the living state. Fixed and stained preparations were made by the wet surface-film method or by the bottom-film method <sup>1)</sup> — the former giving the better results.

<sup>1)</sup> Cf. my paper on the Spirochaets (DOBELL 1912).

At different times, and with various forms of amoebae, I have tried all the common methods of fixation and staining — besides a number of others. I have obtained the best fixation with BOUIN'S fluid (or DUBOSCQ'S alcoholic modification of this), picro-acetic (3 parts saturated aqueous solution of picric acid to 1 part glacial acetic acid<sup>1</sup>), and SCHAUDINN'S sublimate-alcohol.

I used to obtain the best staining for cytological purposes with HEIDENHAIN'S iron haematoxylin. But latterly I have almost discarded this method in favour of an alcoholic modification which I first devised about three years ago. I have now used this stain for a very large number of different organisms, and always with the finest results. It is, in my opinion, superior in many ways to the ordinary HEIDENHAIN method. A number of my pupils and friends have also used this stain with excellent results, and I therefore think it may be advisable to publish a detailed account of the method here.

I was led to try this method on account of several defects which are inherent in the older method. In the first place, HEIDENHAIN'S method necessitates the soaking of preparations in watery solutions for a very considerable period of time. This not only makes the process a very lengthy one, but also has the disadvantage of sometimes causing maceration. With coverglass preparations, it is not uncommon to lose a considerable number of organisms during the staining operations, as they are liable to become detached unless the film is fairly thick and has been previously well hardened.

The cytological results of maceration are even more deplorable. Another disadvantage of the old method is that the "haematoxylin" solution is of uncertain composition. Very different results may be obtained with solutions in different states of "ripeness", and it is necessary to know one's "haematoxylin" to obtain good results. A fourth defect of HEIDENHAIN'S method is one which does not seem to have obtruded itself on others to such an extent as it has on me. I refer to the appearance of "good" HEIDENHAIN preparations as compared with the appearance of the living organisms. The method is largely an impregnation method — not a method of differential colouring. One can obtain "good" preparations of the same object showing quite different pictures under a high magnification. The same chromosome or karyosome, for example, may be

---

<sup>1</sup>) An alcoholic modification of this has also given very good results: — saturated solution of picric acid in 90% alcohol, 3 parts; glacial acetic acid, 1 part. I have used this fixative for a variety of objects for several years, and nearly always with the best results.

“well stained” and yet show itself as a sharply defined deep black body — quite homogeneous in structure; or it may, after further differentiation, appear as a vacuolate or alveolate structure; or it may, after still further extraction of the stain until it is almost colourless, appear as a system of granules imbedded in a matrix of a different substance. In the case of very small structures, the size may be appreciably altered by the stain — as anybody who will take the trouble to make a few experiments can easily convince himself. In my opinion, there is too much deposit and too little colour in HEIDENHAIN'S method. I conceive the proper use of staining to be the revelation of existing structures by means of suitable colouration: and I regard many “good” HEIDENHAIN preparations showing sharp black and white effects as in reality very bad; for the pretty pictures produced are the results of a coat of paint which masks the underlying structure.

I believe that all the defects alluded to above are eliminated from HEIDENHAIN'S method if it is modified in the following manner — by conducting all staining operations in alcohol, and employing haematein in place of haematoxylin. My procedure is as follows:

Films, or sections, are transferred from 70% alcohol into a 1% solution of iron alum in 70% alcohol.<sup>1)</sup> They are mordanted in this for 10 minutes (or longer if desired — 10 minutes is usually adequate). They are then rinsed in 70% alcohol, and transferred to a 1% solution of haematein in 70% alcohol. They are left in this for a similar length of time (10 minutes), and then differentiated — either in the original alum solution or in acidified 70% alcohol (0.6% HCl in 70% alcohol — or a stronger solution if necessary). I generally differentiate film preparations in the alum solution, and sections in acid alcohol. The preparations may be transferred directly from the haematein into acid alcohol; but if alum is to be used, they should be rinsed in 70% alcohol before placing them in it, in order to remove the excess of haematein. Differentiation is controlled under the microscope in the ordinary way. When the preparations are suitably stained, they are carefully washed in several changes of 70% alcohol, to remove all traces of acid or alum as the case may be, and then passed up through the alcohols into any of the usual mounting media.

<sup>1)</sup> This is most easily compounded in the manner described by HICKSON (see LEE-MAYER, “Grundzüge d. mikr. Technik”, 3 ed (1907) p. 219) for staining with brazilin. — Dissolve 1 g iron alum in 23 cc warm distilled water: then add 77 cc of 90% alcohol — which gives approximately a 1% solution of alum in 70% alcohol.

If carefully washed, the preparations will not fade — at all events they will remain unchanged for a long time. (My oldest preparations are about three years old.) If a trace of acid or alum is left, however, through insufficient washing, they are liable to fade — especially if warmed in order to dry the balsam. I have recently used GILSON'S "Euparal" as a mounting medium, with excellent results. But my preparations are all too recent for me to be able to state whether the colour is discharged in the course of time by this medium or not.<sup>1)</sup> Some of my preparations stained by other methods and mounted in "Euparal" have certainly faded very considerably.

It will be seen that my method is much shorter than the ordinary method, for preparations can be mounted and finished in half-an-hour from the time when they are placed in the first alum solution. The rapidity of the process can be even further increased — if necessary — by using warm solutions. If the mordant and the stain are warmed to about 37° C, preparations need not remain in them for more than 5 minutes, or even less. The cold method, however, is sufficiently rapid for most purposes, and gives the better results.

Any alcohol-soluble counterstain may be used after the iron-haematein if desired. I frequently use light green in 90% alcohol. But it is really quite unnecessary to use any counterstain whatsoever, as the cytoplasm is always sufficiently coloured in good preparations stained by my method alone. The colour of the stained organisms is a delicate purplish grey, and hard black and white contrasts are not obtained. The various nuclear and cytoplasmic constituents may be stained with individual intensity, so that all structures present — both "chromatic" and "achromatic" — may be clearly seen if proper lenses and illumination are employed.

The method is not one for the beginner, nor for those unskilled in high-power microscopy. The figures of *Amoeba glebae* and *A. fluvialis* which accompany this paper afford a very fair idea of the staining effects which can be obtained. These drawings are faithful copies of the actual specimens, and not in any way diagrammatic.

---

<sup>1)</sup> Since writing this, I have re-examined some preparations mounted in euparal, and find that they have faded very considerably. Preparations stained with haemalum have also faded in this medium. Mr. A. PRINGLE JAMESON has obtained similar results with preparations stained with iron-haematein. Euparal, therefore, cannot be used if permanent preparations are desired.

I may add here that chance plays a large part in determining the success — or the reverse — which rewards the efforts of those who try to study the method of division in many species of amoeba. On several occasions I have worked extremely hard for several weeks at a flourishing culture of amoebae — making scores of preparations systematically at all times of the day, and examining thousands upon thousands of individuals. On at least two such occasions I have been compelled to cease from the investigation from sheer exhaustion — without having found a single dividing organism. On one occasion, I found an almost complete series of stages in division in the first preparation that I made from a culture of amoebae — and in a large number of subsequent preparations of the same forms not a single stage. In my experience, the amoebae which live in ponds and streams are the most capricious and difficult to study: whereas the forms which live in organic infusions (e. g. *limax* forms) are by far the most easy.

---

### I. *Amoeba lacertae* HARTMANN.

#### **Material.**

This amoeba is a fairly common inhabitant of the large intestine of *Lacerta muralis*. It has previously been named by HARTMANN (1907)<sup>1</sup>) and studied by NÄGLER (1909), whose work I shall consider after describing my own results (see p. 153).

I obtained my material from lizards which I captured near Naples in 1908. At that time I studied the living organisms, and made a number of permanent preparations. I was able to obtain a very large number of dividing and encysting amoebae in some of my preparations, and I have consequently been able to study both division and encystation in great detail. The amoebae live well for several days in cultures of the lizard's faeces; but all the stages which I have figured are from preparations made directly from the contents of the large intestine, immediately after removal. The preparations were fixed in SCHAUDINN'S fluid, and stained with HEIDENHAIN'S iron-haematoxylin or DELAFIELD'S haematoxylin — the former giving the better results. My account of the division of this organism is based on these.

---

<sup>1</sup>) See HARTMANN and PROWAZEK (1907), footnote, p. 314.

### Morphology, etc.

*Amoeba lacertae* is a small *limax*-like form. The living organism is active and moves in the characteristic slug-like manner of *A. limax*. It possesses a distinct ectoplasm and endoplasm in the pseudopodial regions, and its protoplasm is usually filled with numerous food-vacuoles — the animal nourishing itself on the bacteria and fungi which are present in the lizard's gut. The protoplasm itself appears homogeneous or finely granular in living or well fixed and stained specimens, and is not as a rule vacuolate or alveolar.<sup>1)</sup>

The amoeba possesses a diameter of about  $7\ \mu$  to  $14\ \mu$  when in a rounded condition. The measurements were made on fixed and stained organisms.

The nucleus is relatively large. In the living organisms it is seen to consist of a very large and distinct central spherical karyosome — apparently homogeneous in structure — surrounded by a clear zone which is bounded on the outside by a rather indistinct nuclear membrane. There are no granules of "peripheral chromatin" or other structures visible in the clear zone. The diameter of the entire nucleus varies from about  $3\ \mu$  to  $4.5\ \mu$ .

In stained preparations, the nucleus as a whole presents a similar appearance; but the structure of the karyosome varies considerably, apparently according to the way in which it has been stained. In a deeply stained organism, the karyosome appears black and homogeneous (see fig. 1 pl. 7). In nuclei from which the stain has been more strongly extracted, the karyosome appears alveolate or vacuolate, or as a system of minute black granules imbedded in a less deeply stained homogeneous matrix (see figs. 2, 3). It seems to me most probable — after studying a large number of nuclei similar to those depicted — that the karyosome consists of a plastin matrix in which granules of chromatin are imbedded: and that the size of the granules, and consequently the relative amounts of plastin and chromatin, vary from individual to individual — and probably in the same individual at different stages of development.

It is possible that the karyosome goes through a cycle of vegetative changes between one division and the next, and that these

---

<sup>1)</sup> According to NÄGLER (1909), there are "bis zu drei contractile Vacuolen" present. Unfortunately I omitted to record whether a contractile vacuole was present in my organisms or not. I believe I observed one, but I cannot now remember with absolute certainty whether I did so or not.

different appearances represent successive stages in such a cycle. But I know of no way in which such a hypothesis could be tested, save by measurements of the organisms themselves. I have not been able, however, to discover any correlation between the size of the organism and the condition of the karyosome. The different conditions in which the plastin and chromatin appear to be distributed through the karyosome may also have some relation to the prophases of nuclear division. Yet here again there is no means of proving or disproving this with certainty.

It may be noted that in stained preparations, as in the living organisms, the karyosome is surrounded by a clear zone bounded outwardly by a delicate membrane (figs. 1—3): and that there is no trace of "peripheral chromatin" in the clear zone, nor of achromatic threads connecting the karyosome with the membrane.

### Division.

Throughout the whole process of nuclear division the amoeba is generally found to be in a rounded condition (see figs. 4—17). No pseudopodia are as a rule protruded during these phases, though occasionally a few broad and flattened processes of the ectoplasm may be seen projecting from the organism during the earlier stages (see figs. 6, 7, 10, 13). Probably the organism always remains at rest during the entire period when the nucleus is dividing: but I cannot state this with absolute certainty. During the early stages of division it is unusual to find organisms which are not approximately spherical. Nevertheless ovoid or slightly irregular individuals are occasionally found (see, for example, fig. 10).

The earliest stage in nuclear division which I have been able to ascertain with certainty — that is to say, apart from the appearances of doubtful significance in the karyosome, to which I have already alluded — is that shown in fig. 4. The nucleus has attained its maximum dimensions, and the karyosome is undergoing fragmentation into numerous granules of irregular size. At first these granules appear to have no definite arrangement, but they subsequently acquire a very definite disposition. They come to lie (fig. 5) for the most part in meridional lines on the surface of the globular karyosome. The granules at this stage are of a nearly uniform size, and they are most closely aggregated at the opposite poles of the karyosome. If the surface of the karyosome be carefully focussed, the meridional lines of granules appear like strings of beads (fig. 23). The linear disposition of the granules is due, I

believe, to the circumstance that they lie upon extremely slender achromatic threads which pass from one pole of the karyosome to the other. The central part of the karyosome is occupied at these stages by a lightly stainable substance which sometimes seems to contain achromatic threads and granules like those on the surface. It is not possible, however, always to be certain of this.

I have never been able to count satisfactorily the exact number of either achromatic threads or chromatin granules present in nuclei at this stage. I cannot, therefore, state whether the numbers are constant or not. It will be apparent, however, when the rest of the process of nuclear division is taken into consideration, that neither the granules themselves nor the achromatic threads with their chromatin beads deserve to be called "chromosomes".

The nucleus passes from the stage just described into a condition which is depicted in fig. 6. The karyosome becomes drawn out into the form of a short cylinder with rounded ends, the outline of the nucleus itself becoming elliptical. At this stage the chromatin granules and achromatic threads are very distinct, and the poles still appear more deeply stained owing to the denser aggregation of granules in these regions. A little later the cylindrical karyosome becomes constricted in the middle, so that it assumes the shape of a short dumb-bell (fig. 7).

At a still later stage, a very remarkable change takes place in the appearance of the nucleus. A number of very faint lines appear uniting the ends of the dumb-bell and surrounding the handle like mantle-fibres (fig. 8). I have not been able to ascertain with certainty the origin of these fibres. They make their first appearance, in the position indicated, as extremely pale and slender structures, and they seem to me to have usually a beaded appearance — as though formed by the linear apposition of a number of excessively small granules. At this stage they only become evident when the nucleus is very intensely stained (fig. 28). It is possible that these mantle-fibres, as they may be called, are split off from the achromatic threads of the karyosome: but I am inclined to believe that they arise *de novo* in the region where I have first been able to detect them. At a later stage the mantle-fibres become much more distinct, owing to the presence of minute granules of chromatin upon them (figs. 8, 9). These granules are derived from the two ends of the karyosomic "dumb-bell", which now begins to disappear.

Fig. 9 is an optical section of a nucleus at a stage later than that shown in fig. 8. The chromatin granules have now passed



almost completely from the dumb-bell on to the mantle-fibres, though they are still most densely aggregated at the two poles. In deeply stained nuclei at this stage, it can be seen that the handle of the dumb-bell has completely disappeared, and most of the chromatin is consequently in the form of two polar caps of granules (fig. 10).

These two polar caps now begin to draw apart, so that the nucleus and karyosome gradually become fusiform (figs. 11, 12, 13). During this process the achromatic fibres and granules are very distinct — the granules lying on the fibres throughout their whole length. The polar caps are well marked at these stages when the nuclei are rather deeply stained (fig. 13): but they resolve themselves into masses of palely stained granules — like those on the achromatic fibres — in lightly stained specimens (fig. 12).

The nuclear spindle continues to grow in length, without otherwise changing its appearance, until it almost extends from one side of the organism to the other. It then begins to constrict in the middle — thus becoming dumb-bell shaped (fig. 14). The constriction is at first more marked in the nuclear membrane than in the karyosomic spindle. It gradually becomes more and more marked, until the nuclear membrane finally disappears round the handle of the dumb-bell and appears to close in round its ends (fig. 15). In fig. 15 a specimen is shown from which the stain has been strongly extracted. It will be seen that the karyosome possesses its peculiar fibrous and granular structure up to this stage. During the stages just described the outline of the organism itself is usually somewhat elliptical, as though the nuclear manoeuvres set up a strain in the protoplasm tending to draw it out in the direction of the long axis of the spindle (cf. figs. 14, 15).

At the next stage, the two ends of the karyosomic dumb-bell become separated completely from one another (figs. 16, 17), the nuclear membranes closing completely round them. At an early stage in this process, two or three very fine fibres can be seen uniting the two daughter karyosomes which are thus formed (fig. 16): but later these disappear completely, and the only indication of their former presence is a clear tract of protoplasm, free from all food vacuoles, extending between the two fully formed daughter nuclei (fig. 17). This tract very soon vanishes.

During the formation of the daughter karyosomes in the manner just described, the longitudinally arranged achromatic fibres disappear completely, and the chromatin granules fuse together into a few fairly large masses. The karyosomes of the daughter nuclei acquire

the appearance shown in fig. 17, consisting of irregular lumps of chromatin united in a reticulate manner. The nuclei themselves always occupy, at this stage, the extreme opposite poles of the organism — as though forced apart by a mutual repulsion (fig. 17).

The shape of the amoeba itself now begins to change. It becomes elliptical (fig. 18), and finally constricts in the middle (figs. 19, 20) — the two nuclei still remaining at opposite poles. When the constriction is almost complete, and two little daughter amoebae are almost fully individualized, they put out small blunt pseudopodia (fig. 20), which probably assist them to creep apart (cf. *A. glebae*).

The daughter amoebae appear to be cut off sharply from one another in the process of cytoplasmic fission. I have never seen them united at this stage by a protoplasmic strand such as is always present in *A. glebae* (*vide infra*).

Young amoebae, shortly after separation (fig. 21), possess reticulate karyosomes like those formed at the end of nuclear division (cf. figs. 17—20). The karyosome appears to undergo a certain amount of subsequent reorganization, however: for in older organisms it appears more or less homogeneous — even in lightly stained specimens. It seems probable that in the completely reorganized nuclei the chromatin and plastin constituents fuse into a solid and homogeneous mass. In the karyosomes of many young organisms, a clear space (or mass of plastin?) can often be seen (fig. 22). A similar appearance may sometimes be observed in full-grown organisms; but its significance is not obvious and it might be interpreted in several different ways.

I would point out here that at no stage in nuclear division is a division centre — either extranuclear or intranuclear — present. I shall consider in a subsequent section some statements to the contrary which have been made in this connexion (see p. 155). The nuclear division in *Amoeba lacertae* is very peculiar, and differs considerably from a typical “mitosis” or “amitosis” in many ways: and it is questionable how far one would be justified in applying either of these names to it. For the present, I do not wish to complicate or prejudice the issue by using either of these terms, or by the introduction of a new one for this special case.

### Encystation.

*Amoeba lacertae* encysts while it is still in the gut of the lizard. The cysts somewhat resemble those of *A. limax* — both as regards their structure and their method of formation.

Before encystation the karyosome becomes extremely large, attaining a diameter of about  $3\ \mu$ . It stains very intensely, and appears quite homogeneous in structure even after the stain has been very strongly extracted. The animal at the same time gets rid of all the food which it has ingested, the food vacuoles gradually disappearing. The protoplasm becomes distinctly alveolar in structure as the food-vacuoles vanish. At this stage the organism rounds itself into a completely spherical ball, with a very characteristic appearance (fig. 30).

The karyosome increases in size still further, until it fills the greater part of the nucleus (figs. 30, 31). A number of very fine lines can now be seen radiating from the intensely stained karyosome to the nuclear membrane, and at the same time masses of deeply staining matter make their appearance in the cytoplasm (fig. 31). These masses are of variable size and shape (figs. 31, 32, 33). They are frequently seen to be closely applied to the nuclear membrane (fig. 32). At late stages in encystation they are generally in the form of short rods or globules (fig. 33), but at earlier stages many of them have the appearance of minute granules (fig. 31). They gradually become more and more numerous, until the whole of the cytoplasm is closely packed with them (see figs. 31—33). As they increase in numbers, the karyosome diminishes in size (see figs.). Whilst they are being formed the cyst wall is secreted by the organism, as a thin, highly refractile membranous investment (figs. 32, 33).

It seems obvious that the deeply staining masses are formed at the expense of the karyosome; and that the radiating lines which can be seen extending from this body towards the cytoplasm are indications of the fact that its substance is gradually streaming in a centrifugal direction. This, at all events, seems to me to be the most natural interpretation of these phenomena.

When the karyosome has undergone a considerable reduction in size, the nuclear membrane begins to contract, so that the nucleus as a whole becomes much smaller (fig. 34). The lines radiating from the karyosome disappear, and simultaneously with these changes the deeply staining masses in the cytoplasm begin to disappear also. The process continues until only a few scattered granules or rodlets are left — lying mostly at the periphery (fig. 34) and often in contact with the cyst wall. I have not been able to discover how these chromatic masses are eliminated. They simply vanish, leaving no vestige behind them.

At a later stage in development, the cyst wall is seen to consist of two layers — an outer dark brown layer, and a thinner lining layer of a yellowish colour (fig. 35). The organism now throws the few remaining chromatic masses which it possesses out of its cytoplasm. As it does so, it contracts considerably, and thus comes to lie in the middle of the cyst — separated from the double cyst-wall by a clear space containing the granules which it has cast out (fig. 35). The cyst is now fully formed, and undergoes no further changes. It is extremely hard, and impervious to stains, so that it is difficult to obtain good preparations of cysts in this final condition. Most of them remain unstained in film preparations, and when the stain happens to penetrate them it usually colours only a few of the cast off "chromatic" bodies (fig. 35).

The fully-formed cysts have an average diameter of about  $8\ \mu$ . They vary from  $6,5\ \mu$  to  $9,5\ \mu$ . The diameter of the contained organism is, of course, considerably less. Its nucleus has a diameter of about  $2\ \mu$  to  $3\ \mu$  — that of the karyosome being about  $1-1,5\ \mu$ .

So far as my observations permit me to judge, no reproductive processes occur inside the cysts of *A. lacertae*. The cysts appear to be merely resistant protective envelopes, which probably serve for the dissemination of the parasite. It seems probable that they open and liberate their solitary occupants in the alimentary canal of another lizard which may happen to swallow them. This, however, is mere conjecture, based upon an assumed analogy with other organisms.

The cysts of *A. lacertae*, at certain stages, somewhat resemble those of *Basidiobolus lacertae*, which occur in company with them. The latter are, however, easily distinguished by their larger size (ca.  $10-17\ \mu$ ).

Some of my preparations of *A. lacertae* contain very large numbers of cysts in all stages of development, so that I have been able to make out the real sequence of events — as in the case of nuclear division — with complete certainty. I have figured only a selection of typical stages, but I could easily draw — were it necessary to do so — scores of organisms in every intermediate condition. The drawings which I have given form, however, a fairly complete series of pictures both of division and of encystation, and will suffice, I trust, to carry conviction to others.

#### Critical remarks.

The account of nuclear division in *A. lacertae* previously published by NÄGLER (1909) is so different from that which I have just de-

scribed that for a long time I believed that we must have observed two quite different organisms. Nevertheless, the conviction has gradually forced itself upon me that we have really studied one and the same species, and that NÄGLER'S account is based upon a series of errors of observation or interpretation. NÄGLER (1909) obtained his *A. lacertae* from agar cultures made from the faeces of *Lacerta muralis* — "wenngleich diese Amöbe typischerweise im Darm lebt". Presumably, therefore, if either of us has worked upon abnormal material, there can be no dispute as to which of us has done so. The fact that in NÄGLER'S amoebae "das Plasma äußerst grobvacuoligen Bau zeigt" is probably due to the circumstance that they were grown on a solid medium, which sometimes (as others, and I also, have observed) gives rise to such abnormal appearances. NÄGLER'S account is extremely short and vague, and his figures are so rough that it is impossible to know whether their defects are due to errors in fixation and staining, observation, or draughtsmanship. If the figures are really like the preparations, then the latter are not sufficiently good for any accurate cytological information to be obtained from them. If, on the other hand, the figures are not accurate representations of the actual specimens, then it is merely a waste of time to argue about them. In the following lines, I shall assume that NÄGLER'S drawings are not wholly unlike his specimens.

It is stated that "die Größe der *Amoeba lacertae* schwankt zwischen 10—20  $\mu$ . Die Cysten sind kleiner." Such indefinite remarks are not of much service in an attempt to identify NÄGLER'S organisms with mine. From the figures, however, of which the magnification is given, it is apparent that the difference in size between NÄGLER'S forms and mine is not sufficient to preclude the possibility that we have both in reality studied the same species. The dimensions, in fact, seem to be sufficiently alike to strengthen the assumption that this is the case.<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> I would call attention here to some curious discrepancies or coincidences in the papers of HARTMANN and PROWAZEK (1907) and NÄGLER (1909). The figure of a dividing *A. lacertae* given by the former (p. 314) is peculiarly like one depicted by the latter (pl. 2 fig. 47) — the magnifications being given respectively as 1000 and 2600 diameters. If they really are drawings of the same specimen (as I strongly suspect), then one or other of the magnifications is undoubtedly wrongly given. It is curious also, that the shape of the organism and the position and structure of the nucleus have changed slightly between 1907 and 1909. The same phenomenon can be seen in the figures of *A. froschi*, of which HARTMANN and PROWAZEK'S figs. 4 a, b, c, d, e (p. 314) are quaintly similar to NÄGLER'S

It is stated by NÄGLER that he had abundant material at his disposal. And it is therefore surprising that he has not given a complete and consistent series of figures of the division stages of *A. lacertae*, if he possessed them. His figures 45, 46, 47, 49, and 50 form a more or less continuous series, but his figs. 48 and 51 cannot be fitted into it. How is it possible to insert fig. 48 between figs. 47 and 49 — which are so closely similar to one another but so different from fig. 48? Again, how does the condition of the nucleus shown in fig. 50 transform itself into that shown in fig. 51 — even if we accept NÄGLER's apparently gratuitous guess that "die Beendigung der Teilung erfolgt ziemlich schnell"?

It seems certain to me that NÄGLER has not seen nearly all the stages in the nuclear division of *A. lacertae*, and that he has misinterpreted what he did see. His fig. 46 is drawn, I believe, from an organism at a stage intermediate between my figs. 5 and 6. I have seen many such organisms. His figs. 47 and 49 show incorrectly drawn (or abnormal) individuals at about the stage of my fig. 11. His fig. 50 is a distorted version of the stage depicted in my fig. 14. I must assume — in the absence of any evidence at present to the contrary — that NÄGLER has never seen all the other stages of the complicated process of nuclear division which I possess in my preparations of *A. lacertae*. In these preparations I have hundreds of individuals undergoing division — dozens at least of every stage which I have figured, and dozens of all intermediate stages.

It will hardly be necessary to enter into a long discussion of the cytological details in which NÄGLER's account of *A. lacertae* is at variance with the account which I have given in the preceding pages. I would emphasize the facts, however, that there is no equatorial plate formed during nuclear division, and that there is no centriole present in the nucleus at any stage. The latter point may be considered in a little more detail.

NÄGLER maintains that there is a "centriole" present in the

---

figs. 25, 26, 27, 30, 33 (pl. 2), though there are considerable discrepancies in matters of detail. All these figures are drawn by NÄGLER, and they greatly strengthen my conviction that the observations and drawings of this author are not trustworthy. It is, at all events, desirable that more light should be thrown on these peculiar discrepancies (or coincidences?) by those responsible for them. It may be noted that as all the figures have been reproduced photographically, the apparent errors must be sought in the original drawings and not laid to the charge of the process of reproduction.

karyosome of the resting nucleus, and that it divides during nuclear division. The evidence which he adduces in support of these statements is embodied in his figs. 10 (pl. 1) and 45, 46, 47 (pl. 2). The first of these is supposed to show a living organism in which the "centriole" is dividing. It is presumably a freehand sketch, and we are not told how NÄGLER convinced himself that the line which he has drawn in the nucleus is a "centrodesmose". Did he observe the earlier and later stages of this division? If so, in how many instances has he witnessed these phenomena? If not, how does he know that the organism was about to divide? If he saw the whole of the nuclear division in the living organism with such precision as to be able to make out the finer cytological details, how is it that he has been able to give only an incomplete and largely inaccurate account of the whole process? If NÄGLER has satisfactory answers to make to these questions, I shall be ready to admit that my objections are unjustified. His record is silent on these points. I do not know what this alleged "centrodesmose" really represents. It is probably nothing which occurs in the forms which I have studied. And it is perhaps worth noting that if NÄGLER's figure really represents a nucleus at the beginning of division (at a stage such as is shown in my fig. 6), then the "centrodesmose" is lying among a number of achromatic threads of similar size, appearance, and disposition, so that it is remarkable that it can be distinguished at all — especially when it is remembered that the refringence of all these threads is inconsiderable, and that their thickness is such that they lie near the ultimate limit of visibility with the best possible optical apparatus.

The correct interpretation of the "centrioles" and "centrodesmose" which NÄGLER finds in stained preparations is not far to seek. The dot in the centre of the karyosome in his fig. 45 is apparently similar to that which I have depicted in my fig. 29 (pl. 7). The latter is an optical section of a young nucleus in process of reconstruction. I have several times encountered similar specimens, in which — for some unknown reason — one or more granules of chromatin are left in the centre of the karyosome, while the rest take up a position on the periphery. The reticular arrangement (fig. 21) is, however, the common arrangement during these stages.

The "centrodesmose" and "dividing centrioles" of NÄGLER's figs. 46 and 47 are fortuitous appearances which may occasionally be met with in HEIDENHAIN preparations. When the stain is strongly extracted, it sometimes happens that a few chromatin

granules and achromatic threads retain their colour more strongly than the rest. A good "dividing centriole" produced in this manner is shown in my fig. 25. In fig. 27, two such "centrioles" can be seen. In fig. 24 — an early stage, similar to fig. 6 — although division has already progressed for some distance, the "centriole" — the "initiator" of the whole process — the "Teilungszentrum" — has unfortunately remained at one end of the elongated karyosome, and is dividing at an angle of about  $45^{\circ}$  to its proper axis! Such appearances as this, though seldom to be seen and certainly due to quite accidental causes, furnish a *reductio ad absurdum* of the "centriole hypothesis" as applied to *Amoeba lacertae*. In fig. 26 I have depicted a peculiar appearance in an early dividing nucleus which I have only once encountered. Two closely apposed bodies resembling nucleoli can be seen in the middle of the division figure. I cannot offer any satisfactory interpretation of them.

Of NÄGLER'S fig. 48, we are told that here "haben wir ein Stadium vor uns, das . . . wahrscheinlich überfärbt ist, und worin so die im Innern vor sich gehende Centriolenteilung verdeckt wird, die in der fig. 46 dagegen deutlich zu sehen ist". The "dividing centriole" is manifestly, therefore, a purely arbitrary assumption, its existence being a matter of belief and not of observation: nor am I disposed to find any basis for the belief in the totally different stage depicted in fig. 46. It is useless to discuss such statements as the foregoing.

I have purposely selected some of my figures of *A. lacertae* to show the different appearances which the dividing nuclei present according to the degree to which the stain is extracted from stained specimens. An examination of the figures — or still better, of the actual specimens from which they have been drawn — will suffice, I think, to convince any unprejudiced observer of the absence of visible centrioles in *A. lacertae*. I should be glad to demonstrate the actual specimens, or any intermediate stages, to anybody interested in the matter who would take the trouble to visit my laboratory.

In his account of the cysts of *A. lacertae*, NÄGLER seems to have been hardly more fortunate than in the case of nuclear division. He says: "Die Cysten lassen keine Besonderheiten erkennen. Sie sind ziemlich fein granuliert (sic). Die äußere gallertige Cysten-hülle weist häufige Faltungen auf." There are two figures — fig. 11 (pl. 1), showing an unstained irregular thick-walled cyst [? a cyst of *Basidiobolus lacertae*]; and fig. 52 (pl. 2), showing an apparently deformed thin-walled cyst. In both of these the nucleus is very



small — much smaller than the nuclei of the vegetative forms. As NÄGLER has evidently missed all the important changes which take place before and during cyst-formation, I am at a loss to know how he discovered that the cysts which he figures belong to *A. lacertae*. Perhaps he has seen the formation of the chromatic bodies from the karyosome, but took them for “facultatively parasitic micrococci”? (NÄGLER 1910).

I may add that I believe NÄGLER's fig. 51 represents a binucleate individual, and not a stage in division. I have found a number of similar binucleate individuals<sup>1)</sup> in which the nuclei are in contact. These organisms are probably abnormal forms in which the cytoplasm has failed to divide after division of the nucleus (cf. in this connexion GLÄSER [1912], who is of the same opinion with regard to other forms). In any case, during normal divisions the daughter nuclei never lie near to one another, but are always separated by the greatest possible distance.

In conclusion, I would point out that there are two amoebae which commonly inhabit the hind gut of *Lacerta muralis*. In addition to *A. lacertae* there is often present a form which appears to be a true parasite — an *Entamoeba*. These are the only amoebae that I have found in the lizard, and it is quite certain that the *Entamoeba* is not the form described by NÄGLER, though whether his “*A. lacertae*” and mine are identical may possibly still be regarded as an open question.

I have given a figure of the *Entamoeba* from the lizard (fig. 36 pl. 7) to show its size and structure as compared with my “*A. lacertae*”. I have found both large and small individuals with the same characteristic nuclear structure. Large specimens possess, when rounded, a diameter of 30  $\mu$  or slightly more: very small individuals do not exceed 10  $\mu$ . In the largest forms the diameter of the nucleus is about 6,5  $\mu$ , in the smallest about 3,5  $\mu$ . The nucleus contains a large karyosome, surrounded by numerous granules of peripheral chromatin supported on a linin network (fig. 36). There is a very thin nuclear membrane present. The cytoplasm has a delicate alveolate structure in fixed specimens, and is always packed with food bodies. No contractile vacuole is present.

When alive, this organism has an appearance (the nucleus excepted) very like that of *Entamoeba ranarum*, and it moves in a similar manner.

---

<sup>1)</sup> I have also found a few trinucleate individuals.

Although I studied this amoeba for some time, and made numerous preparations of it, I never succeeded in finding a single dividing form. I have thought it desirable to record the presence of this organism, but unnecessary to give it a name at present. It is a form which would doubtless repay further study.

It may be of interest to note the resemblances which *A. lacertae* bears to the amoebae of the *limax* group. The method of nuclear division, it may be pointed out, is somewhat similar to that described by GLÄSER (1912) in *A. tachypodia* — at certain stages. There is, however, one very striking feature which distinguishes the nuclear division of *A. lacertae* from that of all the other typical *limax* forms hitherto described<sup>1)</sup> — I refer to the absence in the former of the characteristic darkly-staining spindle-residue (Zwischenkörper of GLÄSER) which persists during the telophases.

The cysts of *A. lacertae* are also comparable with those formed by *limax* amoebae. In both, the characteristic "chromatin" bodies are formed during encystation. They have been already described by GLÄSER (in *A. tachypodia*) and others, and I have seen them in the cysts of at least two other species belonging to the group. Similar "chromatin" bodies are formed during encystation by *Entamoeba ranarum* — which I have elsewhere described (DOBELL 1909, 1909a) — and by other *Entamoebae*. The correct interpretation of these structures appears to me to be still very doubtful.

In connexion with the parasitic — or semi-parasitic — habit of *A. lacertae*, it is perhaps not without interest to recall that a typical *limax* form has been found in the human intestine by CHATTON and LALUNG-BONNAIRE (1912): while similar organisms have more than once been seen by others<sup>2)</sup> — though their significance does not appear to have been always properly appreciated.

---

<sup>1)</sup> Compare VAHLKAMPF (1905), ARAGÃO (1909), DANGEARD (1910), ALEXEIEFF (1911), GLÄSER (1912), CHATTON and LALUNG-BONNAIRE (1912). I have myself studied two free-living *limax* amoebae — one of which I believe to be identical with *A. tachypodia* — which both possess the characteristic "Zwischenkörper" during telophases.

<sup>2)</sup> Compare, for example, WHITMORE (1911, 1911a).

## II. *Amoeba glebae* n. sp.

I propose this name for a species of free-living *Amoeba* which I shall now describe. I have not been able to identify the organisms, with certainty, with any of the species already recorded. There are already so many of these that I am reluctant to introduce new names. Nevertheless, a name is a present convenience which will at least compensate any confusion which may arise hereafter if anybody shall succeed in identifying my organisms with others already named.

### Material.

*Amoeba glebae* is one of several different amoebae which I have obtained from soil. This species grew very rapidly in both hay infusion and dilute egg albumin — the organisms here described and figured having been cultivated in the former medium.

This amoeba is the only soil-inhabiting species in which I have succeeded in finding a complete series of stages in division in my permanent preparations. But it has to some extent repaid me for the time which I have lost upon others: for I have obtained a very large number of dividing organisms at every possible stage in division, so that I have been able to study the whole process with great precision.

### Morphology, etc.

*A. glebae* is a form which, in the living state, appears to be very closely similar to GLÄSER'S *Amoeba lamellipodia*. So far as I can judge, it differs from this species only in its slightly smaller size, and in possessing but a single contractile vacuole. (*A. lamellipodia* is said to have several — up to four.) GLÄSER'S description of the movements of *A. lamellipodia* would apply equally well to *A. glebae*, so that a description of these here seems to me superfluous. I have also been struck by the general resemblance of my form to the much larger *A. vespertilio* PENARD — a form which I have also studied.

The amoebae of this species have a diameter, when rounded, of about 12  $\mu$  to 20  $\mu$ . The average diameter of spherical organisms during division of the nucleus is 16—17  $\mu$ .

In fixed and stained organisms the endoplasm possesses a beautiful alveolate structure. It is often packed with food particles, consisting

chiefly of bacteria. (In my drawings of this amoeba, the reader may observe that very little food is shown in the cytoplasm. This is because I have purposely figured individuals in which very little food was to be seen, as they furnish prettier and clearer pictures of the nuclear changes.)

The nucleus is subject to very little variation in size. It is a sphere with a diameter of about  $5,5 \mu$  to  $6,25 \mu$ . The largest nucleus which I have measured possessed a diameter of  $6,6 \mu$  (in an unusually large organism). The nuclei of the smallest individuals — shortly after division — measure approximately  $5 \mu$  in diameter.

The form of the "resting" nucleus is very characteristic (fig. 37 pl. 8). It contains a large central karyosome, consisting apparently of chromatin granules imbedded in a plastin matrix, and surrounded by a clear zone which separates it from the very delicate nuclear membrane — the latter having a slightly beaded appearance. Fine radiating strands of linin pass from the karyosome to the membrane; and upon these — in the clear zone — there is a single layer or zone of palely staining granules, which appear in optical section as a ring surrounding the karyosome (fig. 37). I have never seen more than one such layer of granules. The granules themselves would probably be described as "peripheral chromatin" by many writers: but they are composed of a substance different from the chromatin in the karyosome, and — as I shall show — they play no part in nuclear division. All the structures which I have just described in the fixed and stained<sup>1)</sup> nucleus can be distinguished in the living nucleus also.

### Division.

With the exception of the earliest prophase stages, the nuclear division of *A. glebae* is accomplished while the animal is in a rounded condition and completely at rest. Dividing individuals present a slightly irregular globular appearance (figs. 39–43 etc.), but are sometimes modified into a somewhat oval or pyriform shape (cf. figs. 44, 45, 49). Although no locomotory pseudopodia are present, a few very thin and flattened blade-like processes of the ectoplasm can sometimes be seen; and by means of these the sessile organism attaches itself to the substratum (in this case a coverglass) on which it is lying (cf. figs. 39–44). In a preparation of the living amoebae,

---

<sup>1)</sup> All the descriptions of the nuclei and their division in *A. glebae* are based upon specimens stained by my alcoholic iron-haematein method.

the rounded and motionless individuals which are about to divide are very easily distinguishable from their active associates. I have watched the completion of division in the living organism from these stages onwards, but I have never been able to see anything of the division of the nucleus in unstained specimens.

**Prophases.** The earliest stage in the process of nuclear division is that shown in fig. 38. The nuclear membrane becomes very thin, and seems to be dissolving. At the same time, the peripheral granules begin to vanish. They become smaller and smaller, until they finally disappear completely (figs. 38, 39). Simultaneously, the karyosome fragments into a number of very small granules (fig. 38). These granules are at first closely massed together, so that they are difficult to distinguish as separate units. A little later, however, they become more discrete, and thus come to occupy a greater area within the now almost indistinguishable nuclear membrane (fig. 39). These granules are so very numerous that I have never succeeded in counting their number even approximately. (Fig. 39 is an optical section, and therefore does not show all the granules which were actually present in the organism depicted.) It is impossible to be certain whether the granules consist of all the plastin and chromatin of the karyosome, and are independent units separated from one another by nuclear sap; or whether they are really minute masses of chromatin imbedded in a common matrix of plastin.

At a later stage, the nucleus is seen to be nearly filled with granules of a considerably larger size, and far less numerous (fig. 40). These granules appear to result from the fusion of the smaller granules. At a still later stage, they become larger and more distinctly individualized, and they now begin to appear connected together in places by short threads, so that the karyosome has a somewhat reticulate appearance (fig. 41). Up to this stage it is still impossible to count the granules with any certainty.

The linking together of the granules continues until there appears to be but a single coiled thread in the karyosome — a thread upon which the now distinct and deeply-staining granules are strung like beads (fig. 42). This stage may be compared with the spireme stage in a typical mitosis. The granules are — as will soon be apparent — chromosomes. The karyosome, or the part of the nucleus in which the spireme thread lies, now acquires a much more definite structure. It is seen to consist of a palely stained substance with a very delicate alveolate structure (fig. 42). At this

stage — or sometimes a little later — the nuclear membrane vanishes completely. Soon after it has disappeared, the clear zone which lay between it and the karyosome in the “resting” nucleus also disappears.

So far as I have been able to determine, the spireme thread, when it first makes its appearance, is in the form of a coiled filament with free ends — that is to say, it resembles an unclasped necklace. Very soon, however, the ends appear to become united — the necklace becomes clasped, and the thread becomes a looped ring (fig. 43). It is possible that the thread is a closed ring from the beginning. I do not think it is: but the early stages in the formation of the spireme are so excessively difficult to make out, that I cannot make a more definite statement.

The chromosomes now become very distinct. The groundwork of the karyosome becomes lenticular and then globular, with the ring of chromosomes surrounding it in a marginal or equatorial fashion, as the case may be (figs. 44, 45). As the nucleus assumes a globular form, its alveoli become slightly elongated in the direction of the poles. The whole nucleus consequently presents the appearance shown in fig. 45. It is comparable with a globe — the alveolar walls forming a fairly regular and distinct series of meridional lines, irregularly united here and there by transverse latitudinal connexions, with the ring of chromosomes forming the equator. There is no trace of an aster or centriole at the poles.

The stages represented by figs. 43 and 44 are the only stages in the whole nuclear division at which the chromosomes are sufficiently distinct from one another for it to be possible to count them with any certainty. At later stages they lie often very close together, and as they form a ring presented edgewise to the observer, it will be seen that one can hardly hope to make an accurate count of them. I have counted the chromosomes in a number of nuclei at the stages of figs. 43 and 44. And in all cases where I could be absolutely certain, sixteen of them were present. As I have counted approximately this number in later stages also, I feel fairly confident that this is the number normally formed in the nuclear divisions of *Amoeba glebae*. At these stages, also, I have attempted to measure the chromosomes. They are minute spherules with a diameter of approximately  $0.25 \mu$ . They are so minute, however, that it is very difficult to measure them with accuracy. Organisms such as those shown in figs. 43–45 often appear at first sight —

even under a comparatively high magnification — to contain no nucleus at all.

**Metaphase.** At the metaphase, the chromosome ring divides into two closely apposed rings (fig. 46). I believe each chromosome is constricted into two — the constriction passing round each chromosome in an equatorial plane. On account of their very minute size, however, it is difficult — if not impossible — to see things clearly before the two rings of daughter-chromosomes are already separated from one another by a fairly large interval. (Cf. fig. 46. In this figure, the rings of chromosomes are not drawn in their entirety. Only that half of each ring which is nearest to the observer has been depicted, as it lies over the other half, which only becomes visible on carefully focussing down).

**Anaphases.** During the anaphases, the originally globular achromatic part of the nucleus gradually becomes fusiform (figs. 47—49). At the same time, the two rings of chromosomes gradually move apart. That part of the spindle which lies between the chromosome groups presents a more or less fibrillate appearance, so that the chromosomes appear to lie on spindle-fibres. Upon careful examination, however, these “spindle-fibres” always appear to me to resolve themselves into the walls of alveoli (cf. figs. 47—50), which are elongated in the direction of the long axis of the spindle. The parts of the achromatic figure which lie between the chromosomes and the poles very soon lose their alveolate or fibrillate appearance, and appear as homogeneous plasmatic caps at either end of the spindle (figs. 47—50). These caps become smaller and smaller as the chromosomes move further apart (figs. 48—50).

At all the stages depicted in figs. 45 to 50, a small clear space can usually be seen surrounding the ring of chromosomes. This space is visible as a colourless crescentic mark on either side of the nucleus — lying between the edge of the chromosome ring and the cytoplasm (figs. 45, 47—50).

The two chromosome groups move further and further away from one another, the polar caps becoming smaller and smaller as they do so, until they finally disappear (fig. 51). During all the anaphase stages, the chromosomes become gradually more closely approximated to one another (figs. 47—51), until it becomes impossible to distinguish them as separate units. At this stage (fig. 51) the chromosome rings — seen from the side — have the appearance of short, dark, irregularly knobbed rods. The feebly-developed “spindle-fibres” are still visible at this stage, stretching between the two

chromosome plates. Around each of the latter a clear area can now be seen (fig. 51).

When the nucleus has reached this stage, and the chromosome plates are separated from one another by a distance of about  $10\ \mu$ , the outline of the whole amoeba changes from circular to elliptical (fig. 51). The telophases of nuclear division now set in, and take place with great rapidity.

**Telophases.** The final stages of nuclear division and the gradual fission of the cytoplasm take place synchronously. These phases are illustrated by figs. 52 (pl. 8) and 53—59 (pl. 9), which show a series of successive stages. It will be seen — if these figures be inspected — that the body of the original amoeba is gradually constricted into two. A very characteristic feature of this process in *A. glebae* is the persistence, for a relatively considerable time, of a strand of protoplasm connecting the two daughter individuals. This strand of protoplasm is drawn out into an extremely fine filament before it ultimately snaps (fig. 58). Another characteristic feature well shown in these figures is the formation of pseudopodia by the daughter amoebae during the period when the cytoplasm is undergoing fission. The pseudopodia first make their appearance at a stage such as is shown in fig. 52. They rapidly increase in size and numbers, and are for the most part confined to the poles of the organisms most distant from the plane of fission. (See figs. 52—58.) From my observations of living organisms, I believe that these pseudopodia are of very considerable assistance to the little amoebae in enabling them to draw apart, and so complete the process of division.

The fission of the cytoplasm is sufficiently well illustrated in my figures, I believe, for it to be unnecessary for me to say more than these few words about it here. I shall now describe, therefore, the nuclear changes which take place during this process.

At the stage shown in fig. 51 each daughter nucleus appears to consist merely of a small ring of very closely apposed chromosomes lying in a clear space in the protoplasm. Very soon, however, the ring begins to break up into granules; and as it does so, the clear space surrounding it acquires a definite contour (fig. 52). A minute oval or pear-shaped vesicle appears to form round the chromosomes — its smaller end being directed towards the centre of the dividing organism. As division proceeds, this vesicle increases in size; and simultaneously the granules contained within it become larger and more scattered. At this stage they stain very palely.



Many of them pass to the periphery of the vesicle. The granules seem to be connected with one another by fine linin threads, so that the nucleus now has a somewhat reticulate appearance (fig. 53). Very soon nearly all the granules appear to be deposited at the periphery of the vesicle — only a very few palely staining particles remaining in the centre (figs. 54, 55). In this manner the two daughter nuclei are reformed as minute flattened vesicles, with their nuclear membranes studded with tiny granules and only a few very pale but slightly larger granules contained within them (figs. 53—56). During the earlier stages of this process, a small conical outgrowth can be seen projecting from each nuclear vesicle towards its fellow (figs. 54, 55). The granules which were originally present in these (fig. 53), gradually retire into the nuclei, so that they are left empty (figs. 54, 55). A little later these conical processes disappear completely (fig. 56) — being absorbed apparently by the growing nuclei.

The daughter nuclei now begin to grow rapidly in size (fig. 56). From being compressed in a plane at right angles to the long axis of the dividing organism, they gradually open out into large spheres — as though they were inflated by some liquid substance passing into them (figs. 55—57). As the nuclei open out, the granules on their walls become less easily distinguishable; and they finally fuse together to form the new nuclear membranes (figs. 56, 57). At the same time, the central granules increase in size and numbers, and as they do so they begin to stain more deeply (figs. 55—58).

The final stages in the reconstruction of the nucleus consist in the gradual fusion together of the central granules to form the new karyosome; and in the completion of the nuclear membrane and reformation of the structures present in the clear zone of the “resting” nucleus (figs. 57—59). It will be apparent, from the figures, that most of the central granules fuse together first into a few large blocks of deeply staining matter (figs. 57, 58), and that these subsequently undergo a further union (fig. 59). Complete fusion of these blocks has not occurred at the moment of separation of the two daughter amoebae.

The origin of the peripheral granules of the clear nuclear zone — the “peripheral chromatin” of the resting nucleus — is difficult to make out. At the stages of figs. 57 and 58, a few very small peripheral granules begin to differentiate themselves from the general confusion of particles in the middle of the nucleus (fig. 57). The fine linin threads which radiate from the karyosome to the nuclear membrane become distinctly visible as the nucleus gradually assumes

its typical form (figs. 58, 59). When the daughter amoebae break apart, the peripheral granules are seen upon the linin threads in their characteristic position (fig. 59). At this stage the granules are somewhat irregularly disposed, so that in optical section they appear in the form of a broken ring surrounding the reorganizing karyosome (fig. 59).

In organisms which have just separated, the nuclei are not unfrequently somewhat irregular in shape (cf. upper individual in fig. 59).<sup>+</sup> This irregularity is only transient, however, and the nucleus is very soon remodelled to its typical shape.

The last stages of all in the reconstruction of the daughter nuclei take place after complete cytoplasmic fission has been effected. They consist merely in the complete fusion of the karyosomic blocks to form a karyosome of typical form, and in the orderly arrangement of the surrounding peripheral granules and linin threads (fig. 60). The young organisms now contain nuclei exactly like those of their parent (cf. figs. 37 and 60).

The feebly-developed "spindle-fibres" which were present during the anaphases (figs. 47--51) leave traces which can be distinguished until almost complete fission of the cytoplasm has occurred (cf. figs. 52--56). The apparent fibres extending between the daughter nuclei appear to me always to resolve themselves — on careful examination — into the juxtaposed walls of rows of cytoplasmic alveoli stretched between the nuclei as they draw away from one another. The appearances presented (cf. figs. 52--56) suggest to me the fact that the cytoplasm between the nuclei is in a state of considerable tension, rather than that there are actual solid fibres uniting the nuclei with one another. I have accurately figured the appearances, however, and the reader will be able to put his own interpretation upon them.

I cannot state with certainty what happens to the contractile vacuoles during division. When the animal is rounded, before division, it contains a single vacuole: but from the stage of fig. 53 (approximately) onwards, two contractile vacuoles are present — one in each daughter amoeba. I believe that one individual retains the old vacuole, while the other acquires a new one.

The telophases of nuclear division are so complicated that it is surprising how quickly they are accomplished. From the stage of fig. 51, when the animal first becomes elongate, to the stage of fig. 59, when complete separation is achieved, the time occupied is from five to ten minutes. The time occupied by the earlier phases

of division I have not been able to determine. I have not been able to ascertain that an animal was about to divide until it became rounded, and I have been able to see nothing of the early stages of nuclear division in living organisms. From the great preponderance of these stages in my preparations, I believe the anaphases probably occupy more time than the other phases: but I cannot affirm positively that this is so from direct observation.

I may add that I have several times encountered binucleate or trinucleate individuals of *A. glebae*. I regard these as abnormal and similar in nature to the similar forms of *A. lacertae* (see p. 158).

### Encystation.

In one of my cultures of *A. glebae* a great many individuals encysted. Unfortunately I made no preparations of the organisms whilst they were encysting, and I possess stained specimens of fully-formed cysts only. I shall describe and figure these, however, as they may be of service to others in identifying this species again.

Fully-formed cysts (fig. 61) are spherical, with a diameter varying from  $10\ \mu$  to a little more than  $13\ \mu$  — the average diameter being about  $11.5\ \mu$ . They are uninucleate — the greater part of the nucleus being occupied by a very large and apparently homogeneous karyosome. I have not been able to distinguish any peripheral granules in the clear zone, nor any other distinctive structures. It is possible that this is due to the unsatisfactory way in which the contents of the cysts stain: for they possess very thick walls which are often quite impervious to stains; and when they do stain, they frequently possess cytoplasm which is so deeply coloured that it is difficult to distinguish details in the encysted organisms.

The cytoplasm is filled, to a greater or less extent, with a number of very small and extremely refractile granules (cf. fig. 61), which are not colourable with iron-haematein. They seem therefore to be of a different nature from the deeply stainable granules or masses which are formed in the cysts of *limax* amoebae.

There is a thick cyst wall present, consisting of two well-marked layers — a thinner and clear inner layer, and a thicker dark brown outer layer which has a banded appearance when seen in optical section (fig. 61). I am not certain how these appearances should be interpreted, — whether they represent coloured areas or marks, or thickenings of the substance of the cyst wall. The cysts are

not traversed by pores, and are smooth and without any external protuberances or irregularities.

### Remarks.

*Amoeba glebae* appears to be in many ways strikingly similar to *A. lamellipodia* GLÄSER. In both these forms the general structure, movements, and habits appear to be very much alike. The resting nuclei are closely comparable, and the mitotic divisions seem to be of essentially the same type, though differing in details (e. g. chromosome number (?), achromatic figure, etc.). Both forms remain rounded during the earlier part of division, and both divide with the formation of a connecting strand of protoplasm. Finally, the cysts of *A. glebae* appear to be very closely similar to those of *A. lamellipodia*.

The resemblances which *A. lamellipodia* shows to *A. vespertilio* have already been pointed out by GLÄSER (1912), and I have already noted that *A. glebae* also shows certain resemblances to this form. It is interesting to compare the division of the nucleus of *A. glebae* with that of *A. vespertilio* as described by DOFLEIN (1907). Unfortunately, the description of the latter is not so complete as one could desire. I would emphasize here the fact that there is no aster, centrosome, or centriole — intranuclear or extranuclear — visible at any stage in the mitotic division of *A. glebae*.

GLÄSER (1912) is inclined to regard *A. vespertilio* and *A. lamellipodia* as two varieties of the same species rather than as two separate species. I shall not discuss whether this is advisable or not, and if it is, whether *A. glebae* should be regarded as merely another variety or as a separate species. I regard both these questions as still quite unanswerable at the present moment.

It is possible that the division of *Amoeba hyalina* DANGEARD is similar to that of *A. glebae*. I have not studied this organism myself, and three different versions of its nuclear division have already been given — any or all of which may be correct or incorrect. (See DANGEARD [1900], BRODSKY [1910], HARTMANN and CHAGAS [1910].) None of these observers has given a complete series of figures of the division of this form, and it is not certain that the three descriptions really apply to the same species (or variety) of amoeba. The details of division are very differently described by the different authors. For example, DANGEARD categorically denies that a centriole is present: HARTMANN and CHAGAS are equally convinced of the existence of such a structure: and BRODSKY

appears somewhat doubtful whether there is one or not — though, so far as I understand him, he inclines to the view that there is none.

- In conclusion, I may call attention to certain resemblances which appear to exist between *A. glebae* and the "large amoeba from liver abscesses" described by LISTON and MARTIN (1911) and MARTIN (1911) in two papers which appeared simultaneously. Unfortunately, for this species also a complete series of stages in division has not been figured. MARTIN (1911) gives a short account of the prophases, which appear to be similar to those of *A. glebae* — so far as I can judge from the incomplete and rather vague description and figures published. The telophases are not described. In the first account, MARTIN has given a fragmentary description of the nuclear division of this amoeba, in which he both mentions and figures centrioles (cf. LISTON and MARTIN [1911], pl. 16, figs. 7—10). The figures are drawn from HEIDENHAIN preparations. In his second account, however, MARTIN (1911) states: "at no stage in this division can I find any evidence for the existence of a centriole" (p. 281). He figures early stages drawn from specimens stained with haemalum, and says that "the first indication of nuclear division is far more clearly seen on preparations stained with haemalum than in those stained with iron-haematoxylin" (p. 279) — which is quite the reverse of my experience.

So far as I can judge from these conflicting statements, it seems probable that "the large amoeba from liver abscesses" possesses a centriole which is stained by HEIDENHAIN's method, but not stained with haemalum. This would explain the discrepancy in MARTIN's accounts. If a centriole is really present in this amoeba, then it differs in this respect from *A. glebae*.

---

### III. *Amoeba fluvialis* n. sp.

#### Material.

I found the amoeba for which I propose the above name in a culture of many different protozoa and other organisms which I obtained from the River near Cambridge. I transplanted some of this original culture into a very dilute sterilized hay infusion, in which the amoebae multiplied very rapidly for some days. At the

end of about a week, however, they began to disappear and be replaced by other organisms. Other sub-cultures of this *Amoeba* which I attempted to make at the same time were all unsuccessful, probably because they did not contain suitable food.

I have been reluctantly compelled to introduce a new specific name for these organisms, because I can find no similar named form with which I can identify them with certainty. The most characteristic feature of *A. fluvialis* is its method of nuclear division, which is very remarkable and quite unlike anything which has been described previously in amoebae — so far as I am aware. The structure of the ordinary vegetative individuals with “resting” nuclei is not unlike that of some amoebae which have already been described. In fact, I have myself studied at least two other species which differ so little from *A. fluvialis* during their non-dividing stages that they are then almost indistinguishable. The nucleus, however, in both these forms divides in a totally different manner, and the species which I am now about to describe is the only one in which I have been able to obtain a complete series of stages.

### Morphology, etc.

*A. fluvialis* is an amoeba of medium size. Its general appearance is somewhat like that of a small *proteus* amoeba, though the ectoplasm is more strongly developed. The pseudopodia at times are large and flattened (cf. figs. 62, 63 pl. 10), and unlike those of typical *proteus* forms. At times also the organisms resemble *limax* amoebae, with a single large anterior pseudopodium and slug-like creeping movements. I have also seen forms which possessed pseudopodia like those of *A. vespertilio*. In fact, *A. fluvialis* is so variable — especially as regards its pseudopodia — that it is impossible to select as “typical” any one of its many shapes, pseudopodia, or movements.

The endoplasm is filled with fine granules, and usually contains many food-vacuoles. A single large contractile vacuole is present.

Individuals of medium size when more or less spherical possess a diameter of about 26  $\mu$ , — large individuals rounded during nuclear division sometimes attaining a diameter of as much as 33  $\mu$ . The nucleus is spherical, but very often slightly irregular in outline. Its diameter varies from about 5  $\mu$  in small individuals up to about 7.5  $\mu$  in large. In 40 specimens taken at random, the average diameter was found to be 5.6  $\mu$ .

In structure, the "resting" nucleus of *A. fluvialis* resembles that of *A. glebae*. There is a very large central karyosome (see figs. 62 pl. 10, and 76 pl. 11) separated by a peripheral clear zone from the delicate nuclear membrane. The latter generally appears studded with a number of very minute chromatic granules. The clear zone always contains a number of highly refringent granules (so-called "peripheral chromatin") arranged more or less regularly round the karyosome. These granules are much less deeply stained than the karyosome — frequently appearing almost colourless. They are usually arranged in a single layer, so that they have an annular appearance in optical section (cf. figs. 62, 76, etc.). At times the granules are large, and appear to be in close contact with the karyosome (figs. 62, 79 etc.): at others they lie about midway between it and the nuclear membrane (figs. 76, 77). When they are in the latter position, they generally appear to be connected with the karyosome by radiating linin strands. These "strands" are sometimes very distinct, and the "spaces" between them appear more refringent than the general contents of the clear zone. In such cases, I have not been able to determine whether this is the correct interpretation of the appearances presented. It is possible that there are really two different layers of granules surroundig the karyosome — a large pale inner layer, with an outer layer of smaller and darker granules closely investing it (cf. fig. 76 pl. 11). It seems probable to me that both these interpretations are correct — sometimes the one, sometimes the other. I believe that the granules undergo a cycle of changes during the non-dividing stages of development of the amoeba — changes probably associated with the metabolism of the organism as a whole. At first (fig. 62) there is a layer of granules immediately surrounding the karyosome: these then move in a centrifugal direction towards the nuclear membrane: before they reach the latter, a new layer of paler granules makes its appearance between the original layer and the karyosome — in close contact with both (fig. 76). I imagine that the granules of the more peripherally placed original layer then become smaller, and finally vanish; and that the central layer, in contact with the karyosome, then goes through the same cycle once more — being replaced in turn by a new layer of granules which develop between it and the karyosome: and so on, during the vegetative stages of the life-cycle of the amoeba. All this, of course, is mere guesswork, to account for the variable appearance of the peripheral system of granules.

The karyosome itself appears to consist of both chromatin and plastin — the former being present mostly at the periphery (see figs. 62, 76, etc.) in the form of closely packed granules.

Between the peripheral granules and the nuclear membrane, fine strands of linin can sometimes be seen. These are sometimes in the form of pale radiating lines crossing the clear zone, sometimes in the form of a delicate network (see figs. 77—79).

In the living amoeba the nuclear membrane, the peripheral granules, and the karyosome, are all distinctly visible: but finer details of the structure of the nucleus cannot be determined with precision.

In this species — as in the two preceding — I have on several occasions encountered binucleate individuals.

### Division.

*A. fluvialis* remains actively motile during all the stages of nuclear division which precede the metaphase or earliest anaphase stages. It then becomes irregularly rounded, and remains in this condition until the body begins to constrict into two. The daughter individuals then protrude pseudopodia, and pull themselves apart in the manner already described in the case of *A. glebae*. In the present form, however, no connecting strand of protoplasm persists between the daughter animals.

**Prophases.** — In *Amoeba fluvialis* the prophases of nuclear division are very complicated, and I have experienced considerable difficulty in combining into a consistent series the various stages which I have encountered. The chief difficulty lies in the fact that there is no certain means of judging how far any given organism has proceeded in its preparations for nuclear division — either from the shape of the organism itself, or from the size of the nucleus. The latter feature is of some service as a criterion in certain cases, but not always: for it is only approximately true to say that the nucleus gradually increases in size during the prophases. There is so much individual variation in this respect that such a criterion is almost worthless in practice. I have pieced together the following account of the prophases by combining all the stages which appear to me — after studying a great many dividing organisms — to form a consistent series extending from the “resting” stage up to stages which are undoubtedly early phases in the process of division.



At the beginning of the prophases the nucleus is large, owing to the increase in the size of the clear zone and the expansion of the nuclear membrane which immediately bounds it. The karyosome appears to remain of approximately the same size as it is during the resting stages — or, if anything, to become slightly smaller (cf. figs. 76 and 77—79 pl. 11). The peripheral granules at this stage may present any of the appearances which have been already noted as visible in the resting nuclei (cf. figs. 77—79, etc.). In the karyosome, a number of darkly staining rounded masses of chromatin gradually become differentiated (fig. 79). These granules are at first very indistinct, but they subsequently become sharply demarcated, so that it is even possible to count their numbers approximately. They are formed in the peripheral part of the karyosome, so that in optical section they generally appear as a ring of beads enclosing the paler central part. The latter is as a rule quite free from granules, though very rarely one or two are found here also (cf. figs. 77, 78, to which I shall return later). In fig. 79, it should be noted, the chromatin granules are not shown in any one optical section, but they are all of them — so far as I could distinguish them — shown together in one drawing. Actually, all the granules are at the periphery of the karyosome — not in the centre — as can be demonstrated by careful focussing.

In the earliest stages in their formation, the granules are irregularly distributed over the surface of the karyosome. They show lines connecting them together here and there (fig. 79), but they seem to have no definite arrangement. Soon after this stage, however, the granules appear to become united on a single thread of linin, for they assume a spireme-like disposition (fig. 80), which recalls the spireme formed during the prophases in *A. glebae* (vide supra). The granules — or, as I shall henceforth call them, the chromosomes — now open out into a single closed ring (fig. 81), which is apparently formed (as is *A. glebae*) by the union of the two free ends of the spireme thread.<sup>1</sup>) When the ring is formed, the chromosomes are somewhat widely separated from one another, and can be

---

<sup>1</sup>) The spireme stage just described, and shown in fig. 80, I have seen in only two individuals. The ring stage (fig. 81) is, however, not uncommon. I do not know whether this is due to the fact that the spireme figure is of very short duration — but a normal event: or whether the “spireme” is abnormal, and only occasionally formed — normal development proceeding directly from the stage of fig. 79 to that of fig. 81. In view of the conditions which I have observed in *A. glebae*, I believe that the interpretation given above is probably correct.

counted with comparative ease. In all cases where a perfectly certain count was made they were 12 in number: and as I have counted about this number at other stages — both before and after — I think it may be said that this is the typical number of chromosomes in *A. fluviatilis*. The chromosomes themselves are extremely small spheres, with a diameter of about  $0.25 \mu$ .

The chromosomes soon begin to come together, so that they form a very minute, but very dense ring — hardly resolvable into separate granular constituents — surrounding the main mass of the karyosome (fig. 82). The ring, and with it the groundwork of the karyosome, begins to contract — the latter staining somewhat deeply at this stage. Contraction continues until the karyosome becomes quite small — the ring of granules always lying peripherally (or equatorially, according to the way in which it is viewed). At this stage (fig. 83) the karyosomic constituents of the nucleus reach their smallest dimensions, whilst the nucleus itself is at its largest (cf. figs. 83, 64). The nucleus is always nearly spherical at this stage, as though distended with liquid: and the peripheral granules — which have, up to the present, been arranged more or less definitely in concentric layers round the karyosome — become distributed at random through the clear zone (fig. 83). I have not been able to make out any structure whatsoever in the rather deeply stained core of the karyosome at this stage. (It should be pointed out that in figs. 80 to 83 the karyosome is not seen from the same point of view. If we suppose it to be a globe, with the chromosome ring forming the equator, then figs. 81 and 83 are polar views; whereas figs. 80 and 82 represent side or equatorial views.) After the contraction of the karyosome and chromosome ring has taken place, the whole of this part of the nucleus begins to undergo a profound change. The core of the karyosome becomes flattened and plate-like, with the now slightly expanded ring of chromosomes surrounding it (fig. 84 — the plate being seen edgewise). Gradually the core becomes differentiated into a number of short thick fibres — the fibres of the future achromatic spindle figure. At this stage in the formation of the achromatic figure, the nucleus presents the appearance shown in fig. 85; the achromatic fibres resembling a bundle of very short rods, bound together by a cord — the chromosome ring.

As division proceeds, the spindle fibres become gradually longer (figs. 65, 66, 67, pl. 10), until the "spindle" itself becomes barrel-shaped — the chromosomes all the time remaining like a hoop round the middle. As the spindle becomes larger, it can be clearly seen

that the spindle-fibres are all peripherally situated, none of them occupying the central part of the spindle: that is to say, the achromatic figure is really comparable with a barrel at this stage — the fibres representing the staves (cf. fig. 86, pl. 11). The spindle-fibres themselves are slightly thickened at their ends (figs. 66, 67, 86), so that the latter can be focussed as distinct rings of dots at either end of the "barrel". Fig. 86 shows a spindle lying somewhat obliquely, and will illustrate its structure at a glance. The spindle lies almost always with its long axis parallel to the coverglass to which the amoeba is affixed during these stages, and the usual view of it which one can obtain is that shown in figs. 66, 67, etc. Only once have I found a spindle which presented an end view. This is shown in fig. 87. On focussing up, the ring of dots formed by the knobbed ends of the spindle fibres first becomes evident. As one gradually focusses downwards, the spindle fibres themselves can be traced diverging outwards and downwards, until the ring of chromosomes on the equator comes into view. All these structures are shown in the figure. If one continues to screw the fine adjustment still further downwards, however, the other ends of the spindle-fibres beyond the chromosomes can be traced until they gradually converge to a second ring of dots — the knobbed distal ends of the spindle-fibres, which could not be represented in the drawing without confusing it.

The spindle fibres are fairly thick, and quite distinct from one another. It should therefore be possible to count them with precision. Nevertheless, from whatever point they may be seen, they always overlap one another to a certain extent, so that this is not so easy a matter as might be imagined. Indeed, I have never quite succeeded in counting them with complete certainty: and all I can say definitely is that they are approximately equal in number to the chromosomes — that is, there are about 12.

Metaphase and Anaphases. — I have not been able to find a dividing nucleus in which the chromosomes are in the act of division. The first stages that I have found succeeding the equatorial plate stage just described are all early anaphase stages, such as that depicted in fig. 68. The chromosome ring apparently divides into two similar daughter rings — as in *A. glebae* — which gradually move apart towards the opposite poles of the spindle. Between the chromosome groups the spindle fibres remain thick and distinct: but the ends of the fibres, lying between the chromosomes and the poles of the spindle, now become less distinct and more deeply

stainable (fig. 68), so that they appear as caps at either end of the spindle. As the chromosomes move still further apart, this cap-like arrangement becomes more obvious (fig. 69).

Up to this stage (early anaphase) the nuclear membrane remains intact, the spindle figure lying entirely within it (cf. figs. 65—68). The peripheral granules remain scattered through the clear zone in earlier stages, but later they become massed together at one side (fig. 68). When the daughter chromosome groups have moved apart for some distance, the nuclear membrane becomes constricted into the shape of a dumb-bell completely investing the spindle (fig. 69). Clear vesicular areas are thus formed round the poles of the spindle, and in these the peripheral granules can be seen (fig. 69).

The spindle now begins to grow longer and longer — the fibres becoming very thick and obvious as the chromosomes move further and further apart (fig. 70). It seems certain that the daughter groups of chromosomes are separated from one another by the growth of the spindle fibres lying between them — not by the chromosomes moving along the spindle fibres: for the cap-like ends of the spindle remain of the same size during the whole process, whilst the fibres between the chromosome groups become longer and longer (cf. figs. 68—70).

When the chromosomes are separated from one another by a considerable interval, the nuclear membrane begins to disappear. It vanishes first round the equator of the spindle (fig. 70), and as it does so the peripheral granules also vanish. I do not know what becomes of them. They simply disappear completely at this stage, leaving no traces behind.

At this stage the body of the amoeba, which has become approximately spherical during the anaphases, begins to elongate in the direction of the long axis of the spindle (fig. 71). The telophases of nuclear division now begin.

**Telophases.** — As the organism gradually assumes an elliptical outline, the spindle figure becomes greatly modified. The chromosomes and the cap-like poles of the spindle begin to break up and merge into one another (fig. 71). At the same time, the thick intermediate spindle fibres lose their regular rigid arrangement, and appear to become flexible and often somewhat twisted (fig. 71). At this stage only a very faint trace of the nuclear membrane can be made out at the poles of the spindle, incompletely surrounding the forming daughter nuclei.

The body of the amoeba now begins to constrict round the

middle, becoming hour-glass shaped: simultaneously, blunt pseudopodia are protruded from the ends (fig. 72). When the constriction is well marked, the spindle fibres vanish almost completely — only one or two remaining visible as incomplete lines connecting the daughter nuclei (fig. 72). As the fibres vanish, the new nuclear membranes are formed, enclosing completely the ends of the spindle (fig. 62). The latter now present the appearance shown in this figure; that is, they have broken up into a number of darkly-staining granules (presumably derived from the chromosomes) and more palely-staining irregular masses of variable size (presumably derived from the spindle ends). It should be pointed out that in fig. 72 the daughter nuclei are actually separated by a much greater interval than appears in the drawing. This is because the organism is no longer flattened, but globular; and the two nuclei lie in quite different planes — the upper being situated at the extreme upper focus, the lower at the extreme lower, so that both cannot be seen at the same time in the actual specimen. The distance between the two nuclei is really rather greater than that between the nuclei in fig. 71.

The two daughter nuclei move further and further apart, the spindle fibres almost completely vanishing. When the constriction of the body is nearly complete, the daughter nuclei are situated at the opposite poles of the organisms. They are flattened considerably in the transverse direction (fig. 73). At this stage the central part of each nucleus contains an irregular S-shaped string of dark granules (derived from the chromosomes in all probability) and an irregular mass of palely stainable matter (fig. 73).

Constriction into two now takes place — the division being complete without any connecting strand of protoplasm persisting. The daughter individuals rapidly move away from one another, their nuclei undergoing further reconstruction as they do so. This consists in the nucleus itself becoming spherical: in the chromatic granules and palely-stained groundwork massing together to form a karyosome: and in the peripheral granules being reformed in each nucleus (fig. 74). These granules make their appearance at first as tiny pale dots between the karyosome and the nuclear membrane. They then grow in size and begin to take up their typical position (cf. figs. 74, 75). In fig. 74, two recently separated daughter individuals are shown. Fig. 75 shows a single older organism, in which the nucleus is almost completely reconstructed (compare with fig. 76, etc.).

It appears to me most probable that the chromosomes become

merged in the cortical part of the "resting" karyosome, the ground-work or core of which is derived from the remains of the achromatic spindle. This interpretation is consistent with the appearances observed during both the prophases and the telophases. With regard to the origin of the peripheral granules of the clear zone, I can express no very definite opinion. They disappear during the earlier stages of nuclear division, and reappear in the daughter nuclei. Whether they are derived from the karyosome or any of its constituents, or whether they arise *de novo* in the clear zone, or in some other manner, I have no certain means of determining.

### Remarks.

The mitotic division of the nucleus in *A. fluvialis* appears to me to be quite unlike that which has been described in any other *Amoeba*. The achromatic spindle figure is of a very peculiar form, and displays several features of considerable interest.

I would point out that there is no centriole or division centre of any sort visible in the nucleus of *A. fluvialis* at any stage in division. Indeed, the achromatic figure is of such a peculiar type that there is no place for a centriole: and if I shall be accused by any "centriolist" of having overlooked such a structure, then it will be well for him to explain clearly where he supposes this organ to be situated, what its relations are to the achromatic figure, and how it can bring about division.

In resting or early prophase nuclei, one or two large chromatin granules are rarely to be seen lying at the centre of the karyosome (figs. 77, 78). I have seen 3 specimens with a single central granule like that shown in fig. 77, and but a single nucleus with a "dividing centriole" — that represented in fig. 78. All these cases are perfectly clear. The "centrioles" are obviously chromatin granules which, for some unknown reason, have become displaced from the periphery to the centre of the karyosome. But only those completely ignorant of the complicated and peculiar method of division of the nucleus in this species could maintain, with any pretence of plausibility, that these chromatin granules have anything to do with real centrioles. The whole process of mitosis in *A. fluvialis* is a flat contradiction of any such hypothesis.

### Concluding Reflections and Comments.

The following remarks have been suggested by my own studies of amoebae — partly recorded in preceding pages — and by a perusal of recent literature. I shall not attempt to make any exhaustive criticism of the works which deal with nuclear division in amoebae: for, as I have already pointed out, I think the time is not yet come when an extensive analysis of the facts and theories can be profitably made. Moreover, there are already several reviews and critical analyses which deal with this subject from various points of view. I may refer to the works of CHATTON (1910, 1910a, 1912), GLÄSER (1912, 1912a), DANGEARD (1910), ALEXEIEFF (1911, 1912, 1912a). The work of GLÄSER is the most thorough from a cytological point of view, and the facts which he has recorded form a most valuable addition to our knowledge of the amoebae. My own observations are, in many cases, completely in accord with his — though I cannot follow him in all cases in his interpretations. His criticisms of the work of NÄGLER (1909) seem to me completely justified — nor has the reply which the latter has published (1912) induced me to change this opinion. I think CHATTON (1910a) has formed too generous an estimate of the work of this author and some others. Many of the "facts" which he analyses are — in my opinion — not facts at all. The figures given by DANGEARD (1910) are too sketchy and diagrammatic for me to comprehend them: whilst the works of ALEXEIEFF (1911, etc.) are of the nature of preliminary communications, which are not so explicit concerning his discoveries in the domain of fact as in the domain of hypothesis.

It seems fairly obvious at present that different species of free-living amoebae divide in very different ways, though all of these may be considered as representing comparatively few classes or types. For example, the *limax* amoebae appear to form a well-defined group comprising such forms as *A. limax* (VAHLKAMPF 1905, etc.), *A. diplomitotica* (ARAGÃO 1909)<sup>1</sup>, *A. punctata* (DANGEARD 1910, CHATTON and LALUNG-BONNAIRE 1912, ALEXEIEFF 1911, etc.), *A. tachypodia* (GLÄSER 1912)<sup>2</sup> etc. The limits of this group might conceivably

<sup>1</sup>) Concerning this organism, I may say that ARAGÃO's figures fail to convince me that there are two different methods of mitosis. It seems probable to me that there is really but one. Cf. also GLÄSER (1912, p. 72).

<sup>2</sup>) I have myself obtained an organism which I believe to be identical with this form described by GLÄSER, though its division does not completely accord

be extended so as to include such a form as *A. lacertae*. For this group of forms CHATTON (1912) has proposed the new generic name *Vahlkampfia* (= *Naegleria* ALEXEIEFF 1912).

Another set of forms which may perhaps be grouped together, by virtue of their nuclear division, consists of *A. glebae*, *A. lamellipodia* (GLÄSER 1912), *A. platypodia* (GLÄSER 1912), *A. hyalina* (DANGEARD 1900, BRODSKY 1910, HARTMANN and CHAGAS 1910), *A. vespertilio* PENARD, (DOFLEIN 1907), *A. gleichenii* DUJ. (DANGEARD 1910), "the large amoeba from liver abscesses" (LISTON and MARTIN 1911), and possibly *A. binucleata* GRUBER (SCHAUDINN 1895). For some of these forms, the generic name *Hartmannella* (= *Hartmannia* ALEXEIEFF 1912) has been proposed by ALEXEIEFF (1912a).

The two forms described as *A. mucicola* (CHATTON 1911), and *A. hartmanni* (NÄGLER 1911) may perhaps be regarded as constituting a third group.

Judged by their nuclear division alone, a number of other amoebae appear to form classes by themselves — for example, *A. fluvialis*, *A. verrucosa* EHRBG. (GLÄSER 1912), *A. crystalligera* GRUBER (SCHAUDINN 1894), — all of which differ considerably from one another and from the members of the three preceding classes.<sup>1)</sup>

It is not at all improbable that when the facts about the nuclear divisions and life-cycles of amoebae are better known, this present rough method of grouping may form a basis for a rational classification of these organisms. On the other hand, it may have to be abandoned altogether. It is much to be desired that those who have succeeded in studying in detail the nuclear division of any species of amoeba should publish their results, and that fresh investigations should be undertaken from the same point of view. On the other hand, the publication of incomplete and inconsistent accounts of nuclear division — of which too many have already appeared — can serve only to confuse the issue. Accounts of a mitosis from which all the prophases, telophases, and many other stages are missing, have obviously very little value. Consequently, in spite of all that has been written, the complete accounts of nuclear division in amoebae — properly described from good preparations, and

---

with his description and figures. I gave my culture of these organisms to my pupil, Mr. E. FORD, who will shortly report upon them in detail.

<sup>1)</sup> "*A. minuta*" POPOFF (1911) appears to belong to a group of amoebae widely different from all those enumerated above. I may take this opportunity of pointing out that the name of this organism must be changed, as it had previously been given by MERESCHKOWSKY (1879) to a marine form.



consistently illustrated — could probably be counted on the fingers.

It seems worth while to emphasize here the extraordinary differences in the behaviour of all the constituents of the nucleus during division. The karyosome appears to give rise to the chromosomes in some forms, (e. g. *A. glebae*), but not in others (e. g. *A. diplomitotica*). The "peripheral chromatin" is sometimes absent altogether (e. g. *A. lacertae*, *A. platypodia*), sometimes present in abundance (e. g. *A. fluvialis*, *A. tachypodia*): sometimes it gives rise to the chromosomes (e. g. *A. tachypodia*, *A. diplomitotica*), sometimes it disappears completely during mitosis (e. g. *A. glebae*, *A. fluvialis*). The achromatic figure is no less variable. It may be well developed, and of many different forms; or absent altogether (e. g. *A. crystalligera*). Asters are described in the larger species only. The nuclear membrane, moreover, may persist through the whole (e. g. *A. lacertae*) or the greater part (e. g. *A. fluvialis*) of division, or may vanish during the prophase (e. g. *A. glebae*).

But the greatest uncertainty prevails with regard to the existence of centrioles in the nuclei of amoebae. Apart from a minority of enthusiasts who maintain that centrioles occur not only in all the nuclei which they have studied, but also in all those which they have never seen, there seem at the present moment to be but few observers who have been able to detect a true centriole in the nucleus of any amoeba. For my own part, I am convinced that most of the structures called "centrioles" in amoebae are similar to those fortuitous appearances which GLÄSER and I have seen and described. Certainly I am convinced that no centriole or comparable structure exists in *A. lacertae*, *A. glebae*, or *A. fluvialis*: and I think the same is true of most of the forms described by GLÄSER.<sup>1)</sup> I am of the opinion that centrioles probably occur in some amoebae, but not in others. The available evidence appears to me to point to this conclusion, but I cannot speak with conviction about things which I have not seen.

In this connexion I should like to refer to the case of the parasitic amoebae — especially to *Entamoeba ranarum*. I studied the life-history of this form a few years ago (see DOBELL 1909, 1909a);

<sup>1)</sup> I say this because GLÄSER's accounts seem to me to be the most accurate and consistent which have yet appeared. I have studied forms similar in many respects to his *A. tachypodia* (one of my forms is, I believe, the same as his) and *A. lamellipodia*: and I have studied a number of stages in a form which I believe is identical with his *A. platypodia*.

and as I studied the nuclear division in considerable detail, I may be allowed to make a few further remarks about my observations.

In the nuclear divisions of *Entamoeba ranarum*, of which I obtained a very complete series of preparations, I could find no trace of a centriole. Consequently, I did not describe one. Re-examination of my preparations has strengthened my conviction that none is present. Two subsequent observers, who have studied the division of the nucleus in the free forms in greater detail than I succeeded in doing (my stages being almost exclusively confined to encysted forms) have equally failed to find centrioles, (cf. ALEXEIEFF 1912, COLLIN 1913). On the other hand, HARTMANN has on several occasions stated that a centriole is present in *E. ranarum* — see, for example, HARTMANN (1913), HARTMANN and CHAGAS (1910). In the latter work, the peculiar statement is made (it is a mere statement without a vestige of evidence) that “nach unveränderlichen Beobachtungen von HARTMANN . . . ist stets ein Centriol im Caryosom vorhanden”. Though I do not claim immortality for my observations, I may remark that I still have some very good preparations of *E. ranarum* which up to the present have manifested a temporary permanence, and I incline to the view that they furnish better evidence in this matter than an “unveränderliche Beobachtung”. The only concrete evidence which HARTMANN has so far adduced in support of his statements, is — I believe — a figure, stated to represent a stage in division, and published in a recent compilation (1913, p. 644). I can find no evidence that this figure depicts a dividing organism. A similar figure had previously been published by CHATTON (1910a, p. 287).

Now to prove that the “centrioles” of HARTMANN and CHATTON are real centrioles, it is necessary to know some more about these structures. It is not possible to call them “centrioles” until their behaviour during all the stages of nuclear division (not merely in resting or hypothetic prophase stages) is established. It is therefore only just that those responsible for these “centrioles” should publish as soon as possible a complete account of the nuclear division in *E. ranarum* with figures of all the stages — both in the free and in the encysted condition. Without this, their statements are mere empty contradictions to which no importance can be attached.

It may be noted that HARTMANN has made similar assertions about *E. muris* — a form in which WENYON (1907), who studied the nuclear division, has not described centrioles.

From the published accounts of the nuclear divisions of *Entamoeba blattae* (ELMASSIAN 1909, JANICKI 1909, MERCIER 1910), I am unable to form any definite opinion as to whether centrioles occur in this form or not. There are many differences in the descriptions of these three observers which make it difficult to reconcile their views satisfactorily.

In the case of the amoebae parasitic in man, it is perhaps worth pointing out that neither in *E. coli* nor in *E. histolytica*<sup>1)</sup> has HARTMANN up to the present published a single figure of a dividing nucleus which supports his frequently repeated statements that centrioles exist in these organisms. All the so-called "centrioles" appear — contrary to custom — to limit their activities to non-dividing stages. [See the figures of HARTMANN (1908, 1909, 1912) and HARTMANN and WHITMORE (1912)].<sup>2)</sup> It may be noted further that ELMASSIAN (1909 a) has described what he believes to be an extranuclear centriole in both *E. coli* and *E. histolytica* (forma *minuta*). Further light on all these "centrioles" is greatly needed.

It is not my intention to attempt to refute in detail the larger claims of the advocates of the "centriole hypothesis". Most cytologists have already made up their minds on this subject, since a careful study of mitotic division in plants has demonstrated that in these, at all events, a centriole is most frequently absent. "The universal presence of a centriole in every nucleus" is a Hydra-headed hypothesis which has already more than once been decapitated. And it is probably safe to prophesy that in the future — as in the past — whenever it shall raise up its regenerate heads to threaten cytologists, a Hercules will not be wanting to lay it low.

Imperial College of Science, London.

December 1913.

<sup>1)</sup> I use this name for the organisms usually so called and also for the forms called "*E. tetragena*" and "*E. minuta*" — all of which appear to belong to the same species (see DARLING 1912, 1912a, 1913, 1913a, 1913b, etc.). If this is so, the name *histolytica* has priority: and it appears that the forms originally called by this name represent degenerate stages, *tetragena* forms represent typical healthy stages, and *minuta* forms represent a variety distinguished by its smaller size.

<sup>2)</sup> It is gratifying to me to note that HARTMANN and others have now abandoned the view that an autogamy takes place in the cysts of *E. coli* and *E. histolytica* (= *tetragena*), and have consequently come to accept the views which I expressed in 1909. The development of *E. histolytica* (= *tetragena*) appears to be almost identical with that which I have described in *E. ranarum*. No good evidence has yet been brought forward to prove that autogamy occurs in any amoeba.

## Literature.

- ALEXEIEFF, A. (1911): Sur la division nucléaire et l'enkystement chez quelques amibes du groupe limax. C. R. Soc. Biol. T. 70 p. 455, 534, 588.
- (1912): Sur les caractères cytologiques et la systématique des amibes du groupe limax (*Naegleria* nov. gen. et *Hartmannia* nov. gen.) et des amibes parasites des vertébrés (*Proctamoeba* nov. gen.). Bull. Soc. zool. France T. 37 p. 55.
- (1912a): Quelques remarques complémentaires sur la systématique des amibes du groupe limax. Bull. Soc. zool. France T. 37 p. 149.
- ARAGÃO, H. DE B. (1909): Über eine neue Amöbenart, *Amoeba diplomitotica*. Mem. Inst. Oswaldo Cruz T. 1 p. 33.
- BRODSKY, A. L. (1910): The division and encystment of *Amoeba hyalina* DANGEARD. Biol. Zeitschr. Bd. 1 p. 145.
- CHATTON, E. (1910): Protozoaires parasites des branchies des Labres. *Amoeba mucicola* CHATTON, etc. Arch. Zool. expér. T. 5 (5 sér.) p. 239.
- (1910a): Essai sur la structure du noyau et la mitose chez les Amœbiens. Faits et théories. Arch. Zool. expér. T. 5 (5 sér.) p. 267.
- (1912): Sur quelques genres d'Amibes libres et parasites. Synonymies, homonymie, impropiété. Bull. Soc. Zool. France T. 37 No. 3 p. 109.
- CHATTON, E. et LALUNG-BONNAIRE (1912): Amibe limax (*Vahlkampfia* n. gen.) dans l'intestin humain. Bull. Soc. Path. exot. T. 5 p. 135.
- COLLIN, B. (1913): Sur un ensemble de Protistes parasites des Batraciens. Arch. Zool. expér. T. 51 (Notes et Revue) p. 59.
- DANGEARD, P. A. (1900): Étude de la karyokinèse chez l'*Amoeba hyalina* sp. nov. Le Botaniste 7 sér. p. 49.
- (1910): Études sur le développement et la structure des organismes inférieurs. Le Botaniste 11 sér. p. 1.
- DARLING, S. T. (1912): The examination of stools for cysts of *Entamoeba tetragena*. Journ. trop. Med. Hyg., Sept. 2.
- (1912a): The identification of the pathogenic *Entamoeba* of Panama. Trans. XV. internat. Congress on Hygiene and Demography, Washington. Also in: Ann. trop. Med. Parasitol. Vol. 7 No. 2 1913.
- (1913): Observations on the cysts of *Entamoeba tetragena*. Arch. intern. Med. Vol. 11 p. 1.
- (1913a): The rectal inoculations of kittens as an aid in determining the identity of pathogenic *Entamoebae*. Bull. Soc. Path. exot. Vol. 6 p. 149.
- (1913b): Budding and other changes described by SCHAUDINN for *Entamoeba histolytica* seen in a race of *E. tetragena*. Journ. American Med. Assoc. Vol. 60 p. 1220.
- DOBELL, CLIFFORD (1909): Researches on the intestinal Protozoa of frogs and toads. Quart. Journ. Micr. Sci. Vol. 53 p. 201.
- (1909a): Physiological degeneration and death in *Entamoeba ranarum*. Quart. Journ. Micr. Sci. Vol. 53 p. 711.

- DOBELL, CLIFFORD (1911): The Principles of Protistology. Arch. f. Protistenk. Bd. 23 p. 269.
- (1912): Researches on the Spirochaets and related organisms. Arch. f. Protistenk. Bd. 26 p. 117.
- (1913): Observations on the life-history of CIENKOWSKI's "Arachnula". Arch. f. Protistenk. Bd. 31 p. 317.
- DOFLEIN, F. (1907): Studien zur Naturgeschichte der Protozoen. V. Amöbenstudien. Arch. f. Protistenk. Suppl.-Bd. p. 250.
- ELMASSIAN, M. (1909): Sur l'Amoeba blattae. Morphologie, génération. Arch. f. Protistenk. Bd. 16 p. 143.
- (1909a): Sur une nouvelle espèce amibienne chez l'homme, Entamoeba minuta n. sp. Centralbl. f. Bakt., I. Abt. (Orig.), Bd. 52 p. 335.
- GLÄSER, H. (1912): Untersuchungen über die Teilung einiger Amöben. Arch. f. Protistenk. Bd. 25 p. 27.
- (1912a): Über Kernteilung, Encystierung und Reifung von Amoeba mira n. sp. Arch. f. Protistenk. Bd. 27 p. 172.
- HARTMANN, M. (1908): Eine neue Dysenterieamöbe, Entamoeba tetragena (VIERECK). Arch. f. Schiffs- und Tropenbyg. Bd. 12, Beih. 5, p. 117.
- (1909): Untersuchungen über parasitische Amöben. I. Entamoeba histolytica SCHAUDINN. Arch. f. Protistenk. Bd. 18 p. 207.
- (1912): Untersuchungen über parasitische Amöben. II. Entamoeba tetragena VIERECK. Arch. f. Protistenk. Bd. 24 p. 163.
- (1913): Morphologie und Systematik der Amöben. in: KOLLE-WASSERMANN, Handb. d. path. Mikroorg. II. Aufl. p. 607.
- HARTMANN M. u. CHAGAS, C. (1910): Über die Kernteilung von Amoeba hyalina. DANG. Mem. Inst. Oswaldo Cruz T. 2 fac. 2 p. 159.
- HARTMANN, M. u. PROWAZEK, S. (1907): Blepharoplast, Caryosom und Centrosom. Arch. f. Protistenk. Bd. 10 p. 306.
- HARTMANN, M. u. WHITMORE, E. (1912): Untersuchungen über parasitische Amöben. III. Entamoeba coli LÖSCH em. SCHAUDINN. Arch. f. Protistenk. Bd. 24 p. 182.
- JANICKI, C. (1909): Über Kern und Kernteilung bei Entamoeba blattae BÜTSCHLI. Biol. Centralbl. Bd. 29 p. 381.
- LISTON, W. G. and MARTIN, C. H. (1911): Contributions to the study of pathogenic Amoebae from Bombay. Quart. Journ. Micr. Sci. Vol. 57 p. 107.
- MARTIN, C. H. (1911): A note on the early stages of nuclear division of the large amoeba from liver abscesses. Quart. Journ. Micr. Sci. Vol. 57 p. 279.
- MERCIER, L. (1910): Contribution à l'étude de l'Amibe de la Blatte (Entamoeba blattae BÜTSCHLI). Arch. f. Protistenk. Bd. 20 p. 143.
- MERESCHKOWSKY, C. (1879): Studien über Protozoen des nördlichen Rußlands. Arch. f. mikr. Anat. Bd. 16 p. 153.
- NÄGLER, K. (1909): Entwicklungsgeschichtliche Studien über Amöben. Arch. f. Protistenk. Bd. 15 p. 1.
- (1910): Fakultativ parasitische Micrococcen in Amöben. Arch. f. Protistenk. Bd. 19 p. 246.
- (1911): Studien über Protozoen aus einem Almtümpel. I. Amoeba hartmanni n. sp., usw. Arch. f. Protistenk. Bd. 22 p. 56.
- (1912): Die Kern- und Centriolteilung bei Amöben, eine Entgegnung an GLÄSER, usw. Arch. f. Protistenk. Bd. 26 p. 435.

- PENARD, E. (1902): Faune rhizopodique du Bassin du Léman. Genève.
- POPOFF, M. (1911): Über den Entwicklungscyclus von *Amoeba minuta* n. sp. Arch. f. Protistenk. Bd. 22 p. 197.
- SCHAUDINN, F. (1894): Über Kernteilung mit nachfolgender Körperteilung bei *Amoeba crystalligera* GRUBER. Sitz.-Ber. d. kgl. Akad. d. Wiss. Berlin p. 1029.
- (1895): Über die Teilung von *Amoeba binucleata* GRUBER. Sitz.-Ber. d. Gesellsch. naturf. Freunde Berlin p. 130.
- SCHULZE, F. E. (1875): Rhizopodenstudien. V. Arch. f. mikr. Anat. Bd. 11 p. 583.
- VAHLKAMPF, E. (1905): Beiträge zur Biologie und Entwicklungsgeschichte von *Amoeba limax*, usw. Arch. f. Protistenk. Bd. 5 p. 167.
- WENYON, C. M. (1907): Observations on the Protozoa in the intestine of mice. Arch. f. Protistenk. Suppl.-Bd. p. 169.
- WHITMORE, E. (1911): Parasitäre und freilebende Amöben aus Manila und Saigon und ihre Beziehungen zur Dysenterie. Arch. f. Protistenk. Bd. 23 p. 71.
- (1911a): Studien über Kulturamöben aus Manila. Arch. f. Protistenk. Bd. 23 p. 81.

### Description of Plates.

All the figures have been drawn from permanent preparations with the aid of the following optical apparatus: ZEISS large stand, with LEITZ apochromatic oil immersion objective 2 mm (N.A. = 1,40) and compensating oculars 6, 8, 12, and 18: LEITZ achromatic aplanatic condenser (N.A. = 1,40): with critical illumination.

The figures of Plate 7 are all drawn from specimens fixed with SCHAUDINN's sublimate-alcohol and stained by HEIDENHAIN's iron-alum haematoxylin method.

The figures of Plates 8—11 are all drawn from specimens fixed with micro-acetic acid and stained by my alcoholic iron-alum haematein method.

#### Plate 7.

Figs. 1—35, *Amoeba lacertae*, from hind-gut of *Lacerta muralis*. Fig. 36, *Entamoeba* parasitic in same lizard. Magnification of all figures approximately 2000 diameters.

Figs. 1—3. Ordinary individuals, showing different appearances of karyosome.

Figs. 4—20. Successive stages in division. Fig. 10 is a stage similar to fig. 9, but more heavily stained. Figs. 12 and 15 are very lightly stained specimens.

Fig. 21. Young individual, immediately after formation.

Fig. 22. Older individual; karyosome undergoing reconstruction.

Fig. 23. Surface view of lightly stained nucleus at same stage as that in fig. 5.

Figs. 24—27. Nuclei at early stages in division, showing various unusual appearances ("centrioles" etc.) due to staining. (Fig. 24 is at a stage corresponding with fig. 6: figs. 25—27 correspond approximately with the stages of figs. 8 and 9.)

Fig. 28. Nucleus at a stage intermediate between figs. 7 and 8: very deeply stained, showing first appearance of mantle fibres.

Fig. 29. Nucleus of young individual, during period of reconstruction. A chromatin granule lies in the centre, forming a so-called "centriole".

Figs. 30—35. Successive stages in encystation. Fig. 35 is a fully-formed cyst.

Fig. 36. *Entamoeba* sp. from hind-gut of lizard. Characteristic nucleus near centre, surrounded by numerous food vacuoles (see p. 158).

#### Plate 8.

All figures are of *Amoeba glebae*, and all are drawn at an approximate magnification of 2000 diameters.

Fig. 37. Ordinary individual, showing structure of "resting" nucleus, etc.

Figs. 38—52. Successive stages in division.

Figs. 38—45. Prophases.

Fig. 46. Metaphase.

Figs. 47—51. Anaphases.

Fig. 52. Telophase.

#### Plate 9.

All figures are of *Amoeba glebae*. Magnification 2000 diameters.

Figs. 53—59. Telophases.

Fig. 60. Young individual, older than those shown in fig. 59. Nucleus completely reconstructed. (Compare with fig. 37.)

Fig. 61. Fully formed cyst.

#### Plate 10.

All figures are of *Amoeba fluvialis*. Magnification approximately 1500 diameters.

Fig. 62. Ordinary individual, showing structure of resting nucleus, etc.

Figs. 63—73. Successive stages in division.

Figs. 63—67. Prophases.

Figs. 68—70. Anaphases.

Figs. 71—73. Telophases.

#### Plate 11.

All figures are of *Amoeba fluvialis*. Figs. 74, 75 magnified approximately 1200 diameters; figs. 76—87 approximately 2500 diameters.

Fig. 74. End of division.

Fig. 75. Young daughter individual, at stage later than fig. 74, showing almost complete reconstruction of nucleus. (Compare with fig. 62.)

Fig. 76. Resting nucleus, showing characteristic appearance of karyosome, peripheral granules, etc.

Figs. 77, 78. Resting or early prophase nuclei in which chromatin granules are seen lying at the centre of the karyosome — simulating "centrioles".

Figs. 79—85. Nuclei showing successive stages of prophases.

Fig. 79. Formation of chromosomes.

Fig. 80. Spireme stage.

Fig. 81. Formation of chromosome ring (polar view).

Fig. 82. Later stage (equatorial view).

Fig. 83. Later stage, contraction of chromosomes and karyosome (polar view).

Figs. 84, 85. Later stages showing formation of spindle and equatorial plate (equatorial views).

Fig. 86. Nucleus with fully formed "spindle" and "equatorial plate" — the spindle lying somewhat obliquely. A stage rather later than that of fig. 67.

Fig. 87. Nucleus containing a similar spindle, viewed from the pole (distal half of spindle not shown).



*Nachdruck verboten.  
Übersetzungsrecht vorbehalten.*

(From the Biology Department, Imperial College of Science,  
London S. W.)

**On the nuclear division of a free-living *limax*  
amoeba (*Amoeba tachypodia* GLÄSER?).**

By

**E. Ford**

(Marshall Exhibitioner, Imperial College of Science, London).

(With plate 12.)

---

**Contents.**

	page
Material and Methods . . . . .	190
General account of the amoeba . . . . .	191
Nuclear division . . . . .	192
Comparison with <i>Amoeba tachypodia</i> . . . . .	194
References . . . . .	196
Description of plate . . . . .	196

---

Our knowledge of the processes of nuclear division of amoebae is as yet by no means complete, and the object of the present note is to deal with one or two important facts in the nuclear division of a *limax* amoeba which have hitherto escaped attention.

**Material and methods.**

The amoebae I am about to discuss were obtained from a culture prepared by adding a 10% solution of egg albumen in distilled water

to some dried-up material containing encysted amoebae and flagellates, which had originally been taken from the river at Cambridge by Mr. CLIFFORD DOBELL of the Imperial College of Science, London.

My observations and drawings were chiefly made from film preparations fixed in picro-acetic acid (saturated aqueous solution of picric acid 3 parts, glacial acetic acid 1 part) and stained by Mr. DOBELL's alcoholic iron-haematein method.<sup>1)</sup> Fixed preparations stained by HEIDENHAIN's iron-alum-haematoxylin were also examined and sketched.

### General account of the amoebae.

A study of the living individuals early gave indications of their *limax* nature, and the later examination of stained preparations revealed division-figures characteristic of this class of amoebae. No flagellated forms were seen, and as a general rule the individuals were uninucleate, although several multinucleate forms were found.

The resting nuclei and the cysts were measured and found to be  $4\ \mu$  and  $10,6\ \mu$  in average diameter respectively. These dimensions, together with the cytological structure, movements, and the general nature of nuclear division of the individuals are identical with those described by GLÄSER (1912) for *Amoeba tachypodia*, and I am therefore led to refer the reader to the latter work for an account of these structures and phenomena. There are, however, two points in connection with the nuclear division which require comment — the first of these is fully dealt with in the next section of this note, and the second is the presence of a perfectly well-marked equatorial plate during a certain period of the process of division, which structure is said by GLÄSER not to occur in *Amoeba tachypodia*. The equatorial plate of my form is clearly seen in figs. 14–16 pl. 12 as a distinct chromatic formation stretching across the nucleus midway between the chromatic polar masses, at right angles to the long axis of the spindle. At the stage shown in fig. 14, I have been able to count 8 “chromosomes” each consisting of a short rod of from 3 to 5 chromatic granules. At a later period in the division, the equatorial plate divides transversely into halves, the two portions subsequently retiring to their respective poles (fig. 17); but I have never witnessed any actual longitudinal splitting of the chromosome bodies.

---

<sup>1)</sup> Details of this method will be found in a paper by Mr. DOBELL which is now in the press: “Cytological Studies in three species of *Amoeba*” (Arch. f. Protistenk. Bd. 34).

On the other points of the nuclear division my amoeba agrees with GLÄSER's account of *Amoeba tachypodia*, and I have therefore contented myself with giving figs. 1—9 to illustrate this similarity and to compare with the figures given on plate 5 of GLÄSER's work.

Fig. 2 corresponds with fig. 34 of pl. 5 of GLÄSER's paper (1912) on  
*Amoeba tachypodia*

"	3	"	"	"	32
"	5	"	"	"	37
"	6	"	"	"	41 and 42
"	7	"	"	"	43
"	8	"	"	"	45
"	9	"	"	"	46 and 47

### Nuclear division.

It is upon this subject I wish to dwell at some length, for during a study of preparations stained by DOBELL's method, I have discovered achromatic structures present during certain stages of nuclear division which have not been described by GLÄSER as occurring in *Amoeba tachypodia*: nor, to my knowledge, has any investigator of *limax* amoebae previously described them. Certainly no mention of these structures has been made in the works of ALEXEIEFF (1911), ARAGÃO (1909), CHATTON (1910), DANGEARD (1910), and VAHLKAMPF (1905).

The structures I refer to are achromatic caps, situate, during some of the stages of the division of the nucleus, between the ends of the elongated karyosome, or chromatic polar masses as the case may be, and the nuclear membrane.

The resting nucleus (fig. 10) and the earlier stages of the prophase have given me no indications of these achromatic caps, and to my mind, their description by GLÄSER will hold good, so that I refer the reader once more to his figures on plate 5. The earliest stage at which I have been able to recognise the achromatic caps is that shown in fig. 11, in which they may be seen as flattened orange-shaped bodies lying in the somewhat cup-shaped ends of the already elongated karyosome at one of their poles, and touching the inner side of the nuclear membrane at the other. They are usually extremely delicately stained, but none the less easily recognisable. The spindle fibres have just appeared at this time, and can be seen to be stretching across the nucleus from cap to cap, their ends converging to the inner sides of the caps.

I find that as division continues, the caps begin to elongate, eventually becoming conical, with the bases of the cones applied to the ends of the karyosome. This lengthening results in the pushing out of the nuclear membrane by the tips of the cones into finger-like extensions into which the caps eventually project (figs. 2, 3, 13, 14, 15, 16). The apices of the caps are usually pointed, but this is not invariable, specimens with blunted tips to the caps having been seen (fig. 15). In some of the individuals with conical caps I have noticed the presence of dark dots at the apices, the exact nature of which I cannot be certain of. It is possible that the dots are centrioles, but it is more probable that they are merely the optical effects of the complete convergence of the sides of the conical caps. If the dots are solid bodies, then it will be interesting to know why they are not always present, for numerous specimens fail to reveal them (figs. 14 and 22).

Before the splitting of the equatorial plate, the finger-like projections of the nuclear membrane commence to retract, carrying with them the achromatic caps, until the stage is reached when the nuclear boundary is oval with the tips of the caps attached to the inner side of the nuclear membrane at the ends of the long axis (fig. 17). The relation of caps to spindle fibres is at this stage rather obscured by the dense nature of the chromatic polar masses, but in a crushed specimen (fig. 22), and also in a delicately differentiated one (fig. 17), I was able to trace the spindle fibres through the polar masses of chromatin to the bases of the achromatic caps.

From the commencement of the separation of the two halves of the divided equatorial plate, the achromatic caps begin to become darker in appearance and less distinguishable from the chromatic polar masses, until eventually at the stage shown in fig. 6 they are no longer visible. I make the suggestion that this is due to the effect of the gradual covering up of the achromatic caps by the outspreading of the chromatic polar masses, so that both chromatic and achromatic substances at the poles of the spindle become incorporated into a homogeneous mass.

At no later stage of division, nor during the reconstruction of the daughter nuclei, have I been able to recognise the achromatic caps (cf. figs. 7, 8, 9 and 23).

After extracting the stain by means of acid-alcohol from a preparation (stained by DOBELL'S method) in which I had seen a large number of individuals with distinct achromatic caps, I restained it by HEIDENHAIN'S method. On re-examination, I found

that in the majority of cases the caps were quite invisible, although in one or two instances they could just be made out, but without their usual sharp outline. Another interesting and important observation which I made was that the notched ends of the karyosome or chromatic polar masses were extremely well marked in sharp black outline (figs. 18—21).

The obvious conclusion I come to is that HEIDENHAIN'S method is useless for the accurate study of the achromatic caps of this form, but that the presence and nature of the caps can be demonstrated by using DOBELL'S method, for even when preparations are extremely strongly differentiated, so that almost the whole of the stain is removed, both achromatic caps and spindle fibres show up quite clearly.

### Comparison with *Amoeba tachypodia* GLÄSER.

I can now deal with the question of the relation of this form to *Amoeba tachypodia* of GLÄSER.

If the accounts given by GLÄSER and myself are both correct, then we have two species of *limax* amoebae, extremely closely allied, presenting the same general characters, differing only in the presence in my amoeba and the absence in *Amoeba tachypodia* of the achromatic caps. There is an alternative however, and the one which I am inclined to believe is the true state of affairs, which is that the two forms are identical, or in other words that the amoeba I have worked with is *Amoeba tachypodia*; that achromatic caps are present in the latter, but have not been recognised by GLÄSER owing to his having adopted unsuitable staining agents.

I have already referred to the presence of the notched ends of the polar masses in my preparations stained by HEIDENHAIN'S method, and it is particularly interesting to find a similar condition actually figured by GLÄSER in his account of *Amoeba tachypodia*; a glance at figs. 32, 34, 36, 38, 39, 40, 41 and 42 of pl. 5 in that work will demonstrate this point. Fig. 42 is perhaps the most convincing, for in it there is figured at the left-hand end of the nucleus the notched end of a chromatic polar mass with a lightly stained structure fitting into it in the exact position of an achromatic cap. I regard these facts as good evidence that the latter alternative of the two possibilities as to the nature of my amoeba is the true one. Again — as I have stated in the general account of this amoeba — multinucleate forms frequently occur. Figs. 24 and 25 provide interesting

examples; in the former figure we have a binucleate individual, and in the latter an individual which has been fixed in the stage when it was just about to split into two daughter amoebae, each binucleate. The occurrence of multinucleate forms of this kind in *Amoeba tachypodia* has been mentioned by GLÄSER, so here again is additional evidence in favour of my view.

In regard to the work of other investigators, I would like to refer to that of ARAGÃO (1909), and ALEXEIEFF (1911), for drawings in the first case, and a statement in the latter, struck me as being possible indications of achromatic caps in the forms they have studied. In the first case, ARAGÃO in his figures of the division of *Amoeba diplomitotica* has drawn the ends of the polar caps notched (see his figs. 14 and 15, pl. 2).

In the second case ALEXEIEFF in his account of *Amoeba limax* emend. VAHLKAMPF, says in one place "... Les corps polaires peuvent prendre une forme conique (ce que j'ai observé aussi quelquefois chez *A. punctata*) . . ." Is it not possible that his "conical polar caps" are in reality composite cones representing both the chromatic masses and the achromatic caps, which I have described? (cf. fig. 14, 16 and 17).

In conclusion, it may be of interest to note the similarity of the achromatic caps of this amoeba to the achromatic bodies seen at the poles of the spindle during the division of the micronucleus of ciliates. Upon the extent of this similarity and its significance however, I make no comment.

---

### References.

- ALEXEIEFF, A. (1911): Sur la division nucléaire et l'enkystement chez quelques amibes du groupe limax. C. R. Soc. Biol. T. 70.
- ARAGÃO, H. de B. (1909): Über eine neue Amöbenart, *Amoeba diplomitica*. Beitrag zum Studium der Kernteilung bei den Amöben. Mem. Inst. Oswaldo Cruz T. 1.
- CHATTON, E. (1910): Essai sur la structure du noyau et la mitose chez les Amibiens. Faits et Théories. Arch. Zool. expér. T. 5 (5 sér.) No. 6.
- DANGEARD, P. A. (1910): Études sur le développement et la structure des organismes inférieurs. Le Botaniste 11 sér.
- GLÄSER, H. (1912): Untersuchungen über die Teilung einiger Amöben. Zugleich ein Beitrag zur Phylogenie des Centrosoms. Arch. f. Protistenk. Bd. 25.
- VAHLKAMPF, E. (1905): Beiträge zur Biologie und Entwicklungsgeschichte von *Amoeba limax*. Arch. f. Protistenk. Bd. 5.

### Description of Plate.

All drawings are from fixed and stained preparations. Optical apparatus employed was the following: LEITZ large stand, tube length 170 mm: LEITZ 2 mm apochromatic homogeneous immersion objective (N. A. 1.40) with compensating oculars 6, 8, 12 and 18.

All preparations fixed in picro-acetic acid.

Figs. 1—17 and 22—25 stained by DOBELL's alcoholic iron-haematein method.  
Figs. 18—21 stained by HEIDENHAIN's iron-alum-haematoxylin method.

### Plate 12.

Fig. 1. Normal resting individual showing typical nuclear structure, contractile vacuole, and alveolar cytoplasm.  $\times 2000$ .

Figs. 2—8. Stages in division.  $\times 2000$ .

Fig. 9. Reconstruction of daughter nuclei; an unusually small individual.  $\times 2000$ .

Fig. 10. Resting nucleus. Note the granular structure of the karyosome, the peripheral chromatin, and the distinct fibrillar connections of karyosome to nuclear membrane.  $\times 3000$ .

Fig. 11. Earliest stage at which achromatic caps have been seen. These caps can be seen fitting into notches of the karyosome; the spindle fibres can be traced up to the inner sides of the caps.  $\times 3000$ .

Fig. 12. Slightly later stage than fig. 11.  $\times 3000$ .

Fig. 13. Later stage in division: the karyosome is commencing to constrict: the achromatic caps are conical and show the "dot" appearance at their tips: the nuclear membrane has been pushed out in the neighbourhood of the caps: the spindle fibres are not well seen in this preparation.  $\times 3000$ .

Fig. 14. Division stage at which karyosome has become divided into the two polar masses: 8 "chromosomes" are situate on spindle fibres in an even equatorial plate: achromatic caps are conical with no "dot" effect at their tips, and the nuclear membrane has the outgrowth surrounding the caps.  $\times 3000$ .

Figs. 15 and 16. Polar masses have separated and equatorial plate and spindle are well marked: achromatic caps present within the outgrowths of the nuclear membrane.  $\times 3000$ .

Fig. 17. Stage at which equatorial plate has divided into two, with the halves commencing to retire towards the polar caps: the spindle fibres can be traced through the chromatic polar masses to the bases of the conical achromatic caps whose apices are fixed to the nuclear membrane. The latter has no outgrowth at this stage.  $\times 3000$ .

Figs. 18—21. HZIDENHAIN preparations of division stages.  $\times 3000$ .

Fig. 18 corresponds to fig. 11	} The notched ends of the karyosome are visible, but no achromatic caps can be observed.
Fig. 19 " " " 13	
Fig. 20 " " " 14	
Fig. 21 " " " 17	

Fig. 22. Crushed specimen: spindle fibre can be traced to the base of the achromatic cap of the right side of the figure through the mass of the corresponding chromatic polar mass.  $\times 3000$ .

Fig. 23. An individual just previous to division into two; at about the same stage as that of fig. 8. No achromatic caps are visible.  $\times 3000$ .

Figs. 24 and 25. Multinucleate individuals.  $\times 2000$ .

Fig. 24, two nuclei in resting condition.

Fig. 25, one nucleus at about stage shown in fig. 7, whilst two daughter nuclei are being reconstructed after production from a second nucleus. The cytoplasm shows preparation for division into two.



Nachdruck verboten.  
Übersetzungsrecht vorbehalten.

## Beiträge zur Kenntnis der Blutparasiten der Vögel in Japan.

Von  
Dr. N. Mine.

(Hierzu Tafel 13 u. 14.)

### Einleitung.

Seit Sommer 1911—1913 habe ich durch 3 Jahre hindurch die in Kanazawa (Japan) unter den Vögeln schmarotzenden Arten von *Haemoproteus* bzw. *Halteridium*, *Leucocytozoon*, *Trypanosoma*, *Proteosoma* gesammelt und genau studiert.

Im Blute des Sperlings (*Passer montanus*) kann in der Umgegend von Kanazawa *Halteridium* in 22 Proz., im Sommer in 38 Proz. der Fälle gefunden werden. In der Fukuokagegend habe ich diese Parasiten im Blute desselben Vogels nicht gefunden, obwohl ich ungefähr 4 Jahre eifrig danach suchte.

Sehr selten ist das *Proteosoma* im Blute desselben Wirts festgestellt worden, dagegen ist das Blut des Sperlings oft mit *Leucocytozoon*, reichlich infiziert. Im Sommer fand ich *Leucocytozoon* in 95,2 Proz. der Fälle.

Im Blute der Krähe (*Corvus macrorhynchus japonensis*) findet sich ebenfalls eine Art von *Haemoproteus*. Daneben kommt in ihrem Blute noch ein großes echtes *Trypanosoma* vor. Außerdem tritt in der Milz, Lunge und im Knochenmark sowie oft auch im strömenden Blute des Sperlings eine neue Art von Hämospodien auf, die in den großen endothelialen Zellen, den Makrophagen vorkommen und zwar stets in Kála-azar-ähnlichen Stadien.

## I. Eine Art von *Haemoproteus* des Sperlings (*Passer montanus*).

Typus A (Taf. 13 Fig. 1—31).

Im Blute des Sperlings der Kanazawagegend (Japan) kann man im Sommer immer Halteridien in reichlicher Menge nachweisen. Dieses *Halteridium* ist wahrscheinlich dem *Halteridium noctuae*, welches von dem unvergeßlichen FRITZ SCHAUDINN erforscht worden ist, sehr ähnlich.

Im Bau des Plasmaleibes und im Verhältnis des Plasmas zum Kern der Parasiten im Vogelblut zeigen sich gewisse Unterschiede, die in den Zeichnungen angedeutet worden sind. Man kann folgende Formen beobachten:

- a) indifferente Formen (Taf. 13 Fig. 6—8),
- b) männliche Formen (Taf. 13 Fig. 14—16),
- c) weibliche Formen (Taf. 13 Fig. 8—13).

Übergangsformen aus den eigentlichen Halteridienformen in die vermuteten freibeweglichen Trypanosomenformen waren im Vogelblut nachweisbar (Taf. 13 Fig. 20—26).

Nur wenn mehrere junge Schizonten in jedem Gesichtsfeld sich zeigten, wurden diese Formen gefunden; dagegen fanden sich keine Trypanosomenformen, wenn im Blute nur Gameten vorhanden waren. Die Vermehrung erfolgt durch eine Zweiteilung der Trypanosomenformen im Vogelblut (Taf. 13 Fig. 27—31).

In der Blutbahn kommen vollkommene Trypanosomenformen im Zustande freibeweglicher Flagellaten vor. In dem Körper der Trypanosomenformen wird — und diese Tatsache scheint mir besonders wichtig zu sein, bräunliches Pigment abgelagert. Diese Trypanosomen führen den restlichen Kern des infizierten Blutkörperchens zuweilen mit. — Weibliche Macrogametocyten pflanzen sich durch Parthenogenese fort. Auf diese Weise werden die Recidive beim Vogel ausgelöst.

Phagocytose von Parasiten ist gleichfalls beobachtet worden.

In der Milz habe ich gregarinen-ähnliche und trypanosomen-ähnliche Stadien im beweglichen Zustande beobachtet (Taf. 13 Fig. 17—19). Die Trypanosomenformen sind im Vogelblut sehr schwer zu sehen, besonders schwer zu sehen sind die durch Parthenogenese eintretenden Recidivformen und ich habe viel Zeit und Geduld zum Nachweis dieser Frage verwenden müssen, bis ich am 15. November 1911 die fraglichen Stadien in Kanazawa sah.

## II. Eine neue Art von *Halteridium* der Krähe (*Corvus macrorhynchus japonensis*).

Typus B (Taf. 13 Fig. 34—49).

Im Blute der Krähe in der Umgegend von Kanazawa findet man oft *Halteridium*. Es unterscheidet sich von dem oben beschriebenen *Halteridium* des Sperlings durch folgende Merkmale:

1. Doppelkernigkeit.
2. Alkaliphile Granula.
3. Normale Lage des Erythrocytenkernes, der beim *Halteridium* des Sperlings etwas zur Seite gesprengt wird.
4. Doppelinfection der Parasiten in den roten Blutkörperchen.
5. Größeres Volumen des Hauptkernes der Parasiten.
6. Andere Kernlage der Parasiten.

Am 13. Mai 1913 fing ich eine Krähe in Kanazawa.

Bei Untersuchung des Venenblutes fand ich eine Mischinfection mit Halteridien, großen vollkommenen Trypanosomen, Leucocytozoon sowie Microfilarien.

Wir untersuchten in der Folge täglich das Flügelvenenblut, das wir früh morgens (ungefähr 4 Uhr) entnahmen. Bezüglich der Entwicklung des *Halteridium* ergaben sich folgende Befunde.

Am 13. Mai wurden die kleinen rundlichen, jüngsten Formen in den roten Blutkörperchen gefunden, sowie etwas erwachsene Formen, deren Vorderende spitz war (Taf. 13 Fig. 47—48).

Diese Schizonten nehmen bald eine ungefähr ovale, bald eine längliche ovale Form an. Die Zahl derselben war in 10 Gesichtsfeldern folgende:

Indifferente Formen	37	}	42.
weibliche Formen	3		
männliche Formen	2		

Am 14. Mai:

Die jungen Schizonten sind etwas größer.

Indifferente Formen	31	}	35.
weibliche Formen	2		
männliche Formen	2		

Am 15. Mai:

Es traten viele *Halteridium*-Formen auf und einige wenige vollkommene kleine Trypanosomenformen (Taf. 13 Fig. 49), welche letztere aus den Halteridienformen vermutlich entstanden sind; Übergänge sind nicht beobachtet worden.

Das Präparat habe ich Herrn Prof. S. OGAWA (Professor des Hygienischen Instituts an der Universität Fukuoka in Japan) übergeben.

Die Auszählung der Parasiten ergab folgendes Resultat:

Indifferente Formen	12	}	34.
weibliche Formen	11		
männliche Formen	11		

Am 17. Mai:

Nach und nach nehmen die indifferenten Formen ab, während die Macro- und Microgametocyten zunehmen.

Auch große echte Trypanosomen vom Typus des *Tr. avium* kommen vor. Das Testpräparat habe ich gleichfalls Herrn Prof. S. OGAWA übergeben.

Indifferente Formen	2	}	32.
weibliche Formen	9		
männliche Formen	21		

Am 19. Mai:

Nach und nach nimmt das *Halteridium* im Blute ab. Echte große Trypanosomen kommen noch vor.

Indifferente Formen	3	}	17.
weibliche Formen	7		
männliche Formen	7		

Am 22. Mai:

Die Gametocyten sind größer geworden. Der Hauptkern liegt ungefähr in der Mitte der Protoplasmamasse, während der zweite „Kern“ an einem der Enden anzutreffen ist.

Indifferente Formen	1	}	22.
weibliche Formen	12		
männliche Formen	9		

Am 22. Mai:

Hier und da erscheinen die beiden Gameten außerhalb der roten Blutkörperchen.

Indifferente Formen	2	}	26.
weibliche Formen	6		
männliche Formen	18		

Am 25. Mai:

Die indifferenten sowie die männlichen Formen nehmen ab, während die weiblichen Formen übrigbleiben.

Indifferente Formen	1	}	9.
weibliche Formen	6		
männliche Formen	2		

Am 27. Mai:

Die im Blute nachweisbaren Halteridien nehmen ab. Die indifferenten Formen sind verschwunden.

Indifferente Formen	0	} 8.
weibliche Formen	5	
männliche Formen	3	

Am 29. Mai:

Die herangewachsenen Halteridien nehmen im Präparat Kugelform an.

Indifferente Formen	0	} 4.
weibliche Formen	1	
männliche Formen	3	

Am 31. Mai:

Die Zahl der beiden Gameten nimmt immer mehr ab.

Indifferente Formen	0	} 6.
weibliche Formen	2	
männliche Formen	4	

Am 4. Juni:

In einem Präparat erschienen im ganzen nur noch:

Indifferente Formen	0	} 5.
weibliche Formen	3	
weibliche Formen	2	

An diesem Tage starb die Krähe. Im Herzblute, in der Milz und im Knochenmark kommen männliche und weibliche Gameten sehr spärlich vor; in einem Präparat waren nur ein bis zwei *Halteridium* nachweisbar.

Nach obigen Untersuchungen erfolgt die Vermehrung der indifferenten Formen sehr rasch, doch verschwinden sie schließlich. Die Gametocyten, besonders die weiblichen bleiben eine Zeitlang im Blute, in der Milz und im Knochenmark des infizierten Vogels, und nehmen wie die Malariaparasiten erst gegen Ende des akuten Verlaufes der Erkrankung allmählich ab. Die jüngsten Schizonten zeigten eine Doppelkernigkeit (Taf. 13 Fig. 35). Im roten Blutkörperchen nehmen sie bald eine rundliche, bald eine ungefähr ovale Form ein. Der Hauptkern weist eine große runde Gestalt auf, ihm gegenüber liegt ein zweiter Kern, welcher verhältnismäßig deutlich ist. In älteren, sich in die Länge streckenden Parasiten liegt der große Hauptkern ungefähr in der Mitte des Protoplasmas (Taf. 13 Fig. 36, 37, 41, 43—45), während der zweite „Kern“, der eine kleine runde Form besitzt, oft an einem Ende liegt (Taf. 13

Fig. 41, 42, 43, 45). Diesen zweiten „Kern“ finden wir bei weiblichen, indifferenten und auch jungen Formen. Bei *Haemoproteus* des Sperlings zeigt sich ein kleiner zweiter Kern nur zuweilen in der Nähe des Hauptkernes.

In den älteren, erwachsenen Parasiten treten meist hier und da leuchtend rote Pünktchen mit typischer Chromatinfärbung auf. In ganz intensiv mit GIEMSA-Lösung gefärbten Präparaten nehmen diese Granula einen dunkeln, violetten Ton an. Die Granula sind klein, rund und sind bei erwachsenen Formen ziemlich zahlreich. Sie liegen stets im Protoplasma zu beiden Seiten des Kernes (Taf. 13 Fig. 41, 42). Beim *Halteridium* des Sperlings in Japan konnten wir diese Granula nicht nachweisen.

Das *Halteridium* ist anfangs rund und streckt sich beim Wachstum in die Länge; es pflegt meist parallel der Längsachse des Erythrocyten dem Kern des letzteren anzuliegen und in derselben Lage zu wachsen, bis es endlich auf diese Weise eine vollkommene *Halteridium*-Form enthält (Taf. 13 Fig. 43).

Auch gibt es Parasitenformen, welche ganz um den Kern des Erythrocyten herumgewachsen sind und ihn kranzförmig umgeben. Das *Halteridium* des Sperlings zeigt keine typische Hantelformen, wie das eben beschriebene *Halteridium* der Krähe.

Das *Halteridium* der Krähe schiebt während seines Wachstums den Kern des Erythrocyten nicht zur Seite, während das *Halteridium* des Sperlings gegen Ende seines Wachstums den Kern des Erythrocyten verschiebt.

Bei dem Parasiten, welchen ich bei der Krähe beobachtet habe, kam es auch hier und da vor, daß zwei, drei oder vier Parasiten in derselben Wirtszelle vorkamen (Taf. 13 Fig. 44, 46).

Im Blute des Sperlings treten zwar die jüngsten Formen auch als Doppelinfectionen wie bei diesem Parasiten auf, doch kommt eine Mischinfection bei den herangewachsenen Formen nicht oft vor.

Der Hauptkern ist bedeutend größer als der des Sperlingsparasiten, besonders bei den indifferenten Formen. Er nimmt ungefähr ein Viertel des Volumen des Parasiten ein. Der zweite Kern ist bei den jungen Parasiten verhältnismäßig groß, sein Volumen bleibt beim Wachsen des Parasiten aber dasselbe (Taf. 13 Fig. 35, 41, 42, 43, 45, 47).

### III. Ein Trypanosoma vom Typus der *Trypanosoma avium majus*.

(Taf. 14 Fig. 105—109).

Am 15. und 17. Mai 1913 fand ich im Flügelvenenblute derselben Krähe außerdem ein großes Trypanosoma. Dieses Trypanosoma stellt eine selbständige Art dar und steht weder zum *Halteridium* noch zum *Leucocytozoon* in irgendeiner Weise in Beziehung.

Es ist lang spindelförmig gestaltet, der hintere Abschnitt des anscheinend flach gestalteten Parasiten ist leicht S-förmig gekrümmt, das Vorderende ist etwas wellenförmig (Taf. 14 Fig. 109). Der Plasmaleib färbt sich mit der GIEMSA-Lösung intensiv blau, besonders um den Kern herum, es treten dunkelblau gefärbte Granula auf, hauptsächlich im Vorderteil.

Der Periplast ist sehr schön rötlich tingiert und führt eine Art von „Myophanstreifung“, deren Natur aber noch nicht aufgeklärt ist. Diese zieht sich über drei Viertel des ganzen Körpers hin, tritt aber besonders klar in der vorderen Hälfte hervor.

Der oval geformte parallel zur Längsachse gestellte Kern liegt annähernd in der Mitte der Zelle. Er nimmt nicht die volle Breite des Körpers ein und lagert etwas dessen konvexen Seite an.

Im Innern des Körpers zeigt sich ein stark gefärbter Binnkörper.

Der Blepharoplast ist rund, zuweilen oval, mit Kernfarbstoffen stark färbbar und ist weit vom Hinterende des Parasiten entfernt.

Im Innern des Protoplasma kommen viele Fettkügelchen vor.

Der Randfaden der undulierenden Membran entspringt aus einem kleinen Körnchen zentral vor dem Blepharoplasten.

Die derbe undulierende Membran folgt der konvexen Seite des Parasiten. In ihrem mittleren Teile ist sie am breitesten und schön gefältelt. Im vorderen Teil wird die undulierende Membran allmählich niedriger, und ihre Windungen, 6—8 an der Zahl, flachen sich ab (Taf. 14 Fig. 105—108). Die freie Geißel ist stark, aber verhältnismäßig kurz. Die Länge der Geißel beträgt ungefähr 0,7 bis 18  $\mu$ . Die Länge des Parasiten schwankt zwischen 50,2 bis 64,3  $\mu$ , ihre Breite zwischen 6,8—8,3  $\mu$ . Der Parasit stimmt ungefähr mit den von M. ZUPITZA beschriebenen „*Trypanosoma avium majus*“ überein.

#### IV. Das *Proteosoma* der Sperlinge in Japan.

(Taf. 14 Fig. 50—76).

Seit 1911 habe ich häufig Untersuchungen über das Blut des Sperlings angestellt.

In dieser Zeit habe ich nur einmal und zwar am 26. Juni 1913 eine Art von *Proteosoma* im Blute des Sperlings entdeckt.

Der Vogel, welchen ich in unserem Laboratorium hielt, wurde einige Tage vor dem Tode still, fraß nichts mehr und sein Gefieder sträubte sich.

Im Blute, in der Milz und im Knochenmark dieses Sperlings habe ich eine Art von *Proteosoma* gefunden.

In jedem Gesichtsfeld wurden verschiedene Entwicklungsstadien des *Proteosoma*, von jüngsten Schizonten bis zu Gametocyten und Schizogonie gefunden.

Dabei konnte ich die merkwürdige Beobachtung machen, daß die Schizogonie der Parasiten im Blute, und in den inneren Organen zwei verschiedene Formen aufweist, die ich als die männliche und weibliche Schizogonie, gerade wie bei der Schizogonie von *Cyclospora caryolytica* ansprechen möchte.

Die jüngsten Schizonten, welche in die roten Blutkörperchen eingedrungen sind, zeigen gelappte oft dreieckige, bald rundliche, bald ovale Formen.

Sie haben einen ziemlich großen Hauptkern.

Mehrfach können wir eine Art von „Doppelkernigkeit“ beobachten, indem neben dem Hauptkern ein kleiner Kern auftritt; manches Mal schien am Vordergrunde der jüngsten Parasiten eine kurze Geißel zu sein.

Beim Heranwachsen verändern diese Formen ihre Gestalt, und nehmen verschiedenartige Formen in der infizierten Blutzelle an. Dabei fällt im heranwachsenden Parasiten die Bildung reichlichen Pigmentes auf. Das Pigment ist gröber als das bei *Haemoproteus*.

Der Erythrocytenkern kann nach allen Seiten verschoben werden, ohne daß man eine mechanische Erklärung für dieses Verhalten geben konnte, weil auch bei jungen Parasiten die Kernverschiebung vorkommt. Man findet bei dieser Infektion auch kernlose Vogelbluterythrocyten (Taf. 14 Fig. 50—62).

Schon früh zeigen die *Proteosoma* deutlich die Unterschiede zwischen männlichen und weiblichen Formen wie bei *Haemoproteus*.

Die männlichen Formen (Taf. 14 Fig. 54—57) haben ein hyalines



Plasma und vornehmlich grobkörniges Pigment, das wir als Merkmal der Unterschiede zwischen *Halteridium* und *Proteosoma* betrachten können, und zwar fällt dieses Verhalten bei einer Untersuchung im hängenden Tropfen in lebendem Zustande des Parasiten auf.

Die weiblichen Formen (Taf. 14 Fig. 58—60) haben dichtes Plasma und feinkörniges Pigment. Nach Färbung mit GIEMSA-Lösung besitzen die weiblichen Formen ein dunkleres granuliertes Plasma als die männlichen Formen. In gefärbten Präparaten treten deutlich die Unterschiede in der Kerngröße hervor; die männlichen Microgametocyten sind vielfach größer als die weiblichen Macrogametocyten. Außer dem Hauptkern findet man häufig von demselben entfernt ein blepharoplastisches Korn (Taf. 14 Fig. 50, 61). Bei dieser neuen *Proteosoma*-art ist es von besonderem Interesse, daß wir eine männliche Schizogonie (Taf. 14 Fig. 63—68) und eine weibliche Schizogonie (Taf. 14 Fig. 69—72) unterscheiden können, wie bei *Cyclospora caryolytica*.

Die Schizogonie kommt sowohl im strömenden Blute, als auch in der Milz und im Knochenmark vor. Die Schizogonie zeigt alle Stufen der Kernteilung in herangewachsenen Schizonten in einem Gesichtsfeld, wie bei der Schizogonie der Coccidien.

Zu Beginn treten zwei, drei, vier, fünf, auch noch sechs, acht, zehn und zwölf Kerne auf, ja auf der Höhe der Teilung sind sogar 28—32 Teilungsformen nachgewiesen worden.

Diese Schizogonie zeigt zwei verschiedene Typen, der erste Typus (Taf. 14 Fig. 69—72) besitzt einen dunklen granulierten und plasmareichen Leib, besonders auch Reservestoffe, auch bleiben bei der Trennung der Merozoiten Restkörper zurück, der andere (Taf. 14 Fig. 63—68) zeigt ein hyalines Plasma. Den ersten Typus fasse ich als weibliche Schizogonie, den letzten als männliche Schizogonie auf. Der Kern der weiblichen Schizonten ist größer als der der männlichen Schizogonie. Meist können wir kleine Merozoiten beobachten, welche aus der Schizogonie entstehen (Taf. 14, Fig. 73—75).

Sehr früh kann man beide Unterschiede erkennen, welche uns gestatten, die einen von ihnen als männliche, die anderen als weibliche Merozoiten zu bezeichnen. Die weiblichen Merozoiten scheinen plasmareicher zu sein als die männlichen Formen. Bei den beiden Merozoiten kann man eine Art von Zweikernigkeit beobachten.

## V. Das *Leucocytozoon* des Sperlings in Japan.

(Taf. 14. Fig. 77—95.)

Vom Juni des Jahres 1911 an bis August 1913 untersuchte ich in der Gegend von Kanazawa das Blut von Sperlingen und fand *Leucocytozoon* in 51,1 Proz. der untersuchten Fälle, — im Sommer in 95,2 Proz. der Fälle. Nicht selten nahm die Infektion einen tödlichen Verlauf an; in diesen Fällen waren die Wirtszellen sehr stark infiziert, besonders ist zu bemerken, daß namentlich in den blutbereitenden Organen sich die freien Ruheformen vorfanden; vor allem beobachtete ich eine freie Schizogonie, welche ich in der mir zu Gebote stehenden Literatur außer bei Fantham, nirgends erwähnt finde.<sup>1)</sup>

Es ist sehr schwer, die Natur der Parasiten in jedem Falle festzustellen. Aber bei der Untersuchung fixierter Präparate, die mit GIEMSA-Färbung behandelt sind, können wir zwei verschiedene Formen unterscheiden. Bei der einen Form (Taf. 14 Fig. 80—84) erkennt man in der dunkelblau gefärbten Protoplasmamasse einen verhältnismäßig kleinen roten Kern; die andere Form (Taf. 14 Fig. 77 bis 79) hat in dem hyalinen Plasma, das in den peripheren Teilen schwach rosa gefärbt ist, einen sehr großen Kern. Die letztere ist die männliche, die erstere die weibliche Form. Bei den Macrogameten kann man das blepharoplast-ähnliche Körnchen (Taf. 14 Fig. 83—85) neben dem Hauptkern erkennen, auch treten dunkelblau gefärbte Granula im Plasmaleib auf.

Eine Wirtszelle beherbergt für gewöhnlich nur eine, nicht selten aber auch zwei Parasiten, die oft verschiedene Gestalten aufweisen.

In der Milz und im Knochenmark kommen die *Leucocytozoon* auch frei vor und haben dann bald ovale, bald rundliche, nicht selten auch spindelförmige Gestalt.

Ob die Wirtszellen des *Leucocytozoon* junge Erythroblasten sind, können wir jedoch noch nicht klar nachweisen. Es scheint, als ob die Parasiten in den Kern der Wirtszelle tief eingedrungen und mit ihm ziemlich innig verschmolzen sind (Taf. 14 Fig. 77—81). Die Parasiten, welche auf diese Art den Wirtszellkern „infizierten“, zeigen eine mannigfache Gestalt.

Beim Heranwachsen der Parasiten wird der Wirtszellkern mannigfach verzerrt, so daß es manches Mal den Anschein hat, als ob die Parasiten in dem Kern selbst schmarotzen würden.

<sup>1)</sup> In der Zwischenzeit fand Dr. MOLDOVAN Schizogonie bei dem *Leucocytozoon* der Eule.

Am 18. September 1913 habe ich eine interessante Form von *Leucocytozoon* gefunden.

Es war eine typische Schizogonie (Taf. 14 Fig. 86–94), welche sehr an die ungeschlechtliche Vermehrung von *Proteosoma* erinnerte. Die Schizogonie kommt sowohl im peripheren Blut, als auch in inneren Organen und zwar in der Milz und dem Knochenmark vor. Meistens beobachtet man die Schizogonie, welche mit dem Wirtszellkern sich fest vereinigt. In der Milz und im Knochenmark treten auch freie, kuglige Schizogoniefornien auf (Taf. 14 Fig. 92, 93). Die ungeschlechtliche Vermehrung bringt zwei, vier, sechs, und sogar bis zehn und zwölf Kernteilungen hervor. Auch zeigen die Teilungsformen männliche und weibliche Formen (Taf. 14 Fig. 92, 93).

Es treten außerdem kleine Merozoiten auf, von denen es noch zweifelhaft ist, ob sie von der oben beschriebenen Schizogonie ausgehen. Die Merozoiten besitzen eine längliche oder sichelförmige Gestalt. Ihr Kern ist außerordentlich groß, so daß er ungefähr drei Viertel des Plasmaleibes einnimmt und ist sehr intensiv gefärbt. Im Innern des Plasma sind sehr kleine und stark gefärbte Körnchen zu erkennen.

Es treten auch zwei Arten von Merozoiten auf, welche sich durch die Natur ihres Plasmaleibes voneinander unterscheiden. Wir dürfen sie vielleicht als männliche (Taf. 14 Fig. 94a), und als weibliche Form (Taf. 14 Fig. 94b) ansehen.

Der Merozoit mißt ca. 2–3  $\mu$  in der Länge und 0,3–0,5  $\mu$  in der Breite.

Sehr selten kommen diese Parasiten auch in Eosinophilen vor (Taf. 14 Fig. 95).

---

## VI. Eine neue Art von Hämosporidien des Sperlings.

(Taf. 14 Fig. 96–104.)

Die Natur dieses Parasiten ist noch unklar.

In den Präparaten der Milz treten die Parasiten auf. Im peripheren Blute ist es mir aber auch gelungen, sie nachzuweisen. Dieses eigenartige *Haemosporidium* erscheint vornehmlich in kälazar-ähnlichen Stadien. In der Milz des Sperlings werden die Parasiten im Sommer oft in dem Protoplasma von Leucocyten gefunden, deren Kerne unregelmäßig, und vielfach seitlich gelagert sind.

Die Parasiten kommen in den Wirtszellen anfangs in der Zahl von zwei, vier, sechs, acht und zehn, schließlich in enormen Mengen

vor; es sind mehr als 100—200 in einer einzigen Zelle gezählt worden. Der Kern der Parasiten ist scharf und klar gefärbt und manchmal ist eine Andeutung von Zweikernigkeit vorhanden. Die Hämosporidia werden in polynucleären und mononucleären stark vergrößerten Leucocyten angetroffen. Auf der Höhe der Infektion beobachtet man einen Zerfall der Wirtszellen, und man findet zahlreiche, sehr kleine, keilförmige Keime. Die Parasiten innerhalb der Wirtszellen bestehen aus Kernsubstanz, man kann ihr Protoplasma nicht darstellen; auch bei den freiwerdenden jungen Keimen färbt sich nur die Kernsubstanz.

Zum Schluß bin ich meinem verehrten Lehrer Herrn Prof. Dr. K. MIYAIRI für die liebenswürdige Anregung zu tiefgefühltem Danke verpflichtet. Ebenso bin ich Herrn Prof. M. OGAWA für das lebhafteste Interesse, das er meinen Untersuchungen entgegenbrachte, zu großem Danke verpflichtet.

An dieser Stelle ist es mir eine angenehme Pflicht, Herrn Dr. S. v. PROWAZEK meinen aufrichtigsten und innigsten Dank auszusprechen.

### Literaturverzeichnis.

- 1) ARAGÃO, H. DE B.: Über den Entwicklungsgang und die Übertragung von *Haemaphysalis columbae*. Arch. f. Protistenk. Bd. 12. 1908.
- 2) CARDAMATIS, J. P.: L'*Haemamoeba ziemanni* d'après des observations faites. Centralbl. f. Bakt., I. Abt. (Orig.) Bd. 60 H. 3/5. 1911.
- 3) DOFLEIN, F.: Lehrbuch der Protozoenkunde. 1913.
- 4) GONDER, R.: Die Entwicklung von *Theileria parva*, dem Erreger des Küstenfiebers der Rinder in Afrika. Arch. f. Protistenk. Bd. 21 p. 145. 1911.
- 5) GRASSI, B. u. FELETTI, R.: Weiteres zur Malariafrage. Centralbl. f. Bakt. u. Parasitenk. Bd. 10 Nr. 14—16.
- 6) HARTMANN, M.: Praktikum der Protozoologie. 1910.
- 7) —: Das System der Protozoen. Arch. f. Protistenk. Bd. 10. 1907.
- 8) HARTMANN u. JOLLOS: Die Flagellatenordnung „Binucleata“. Phylogenetische Entwicklung und systematische Einteilung der Blutprotozoen. Arch. f. Protistenk. Bd. 19. 1910.
- 9) KOCH, R.: Über die Entwicklung der Malaria Parasiten. Zeitschr. f. Hyg. Bd. 32 p. 11—18. 1899.
- 10) KOIDZUMI, T.: Parasitische Protozoenlehre. 1910. (Japanisch.)
- 11) LABBÉ, A.: Sporozoa. Das Tierreich. 5. Lieferung. Berlin 1894.
- 12) LÜHE, M.: Die im Blut schmarotzenden Protozoen und ihre nächsten Verwandten. MENSE, Handb. d. Tropenkrankh. 1906.
- 13) MAYER, M.: Über die Entwicklung von *Halteridium*. Arch. f. Schiffs- u. Tropenhyg. Bd. 14 Nr. 7. 1910.

- 14) MAYER, M.: Über ein Halteridium und Leucocytozoon des Waldkauzes und deren Weiterentwicklung in Stechmücken. Arch. f. Protistenk. Bd. 21. 1911.
- 15) MENSE, C.: Vorlegung von Präparaten japanischer parasitischer Protozoen. Verhandl. d. deutsch. tropenmed. Ges. Arch. f. Schiffs- u. Tropenkrankh. Beih. 6. 1909.
- 16) MIYAIRI, O. K.: Forschung der parasitischen Protozoen. 1909. (Japanisch.)
- 17) MIYASHIMA, K.: Über die Malariaparasiten „Halteridium“ des Sperlings. Zool. Zeitschr. 1903. (Japanisch.)
- 18) —: Über die Anopheles auf Formosa. III. Mitteil. 1905. (Japanisch.)
- 19) MINE, N.: Beobachtungen über die japanischen parasitischen Protozoen. 1912. (Japanisch.)
- 20) NAKAYAMA, H.: Beiträge zur Kenntnis der Fortpflanzung von Kaninchen-coccidium. Zeitschr. d. med. Ges. in Tokio Bd. 26 Nr. 1 1912. (Japanisch.)
- 21) NEUMANN, R. O.: Studien über protozoische Parasiten im Blute von Meerfischen. Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. 64. 1909.
- 22) OGAWA, M.: A Hand-List of the Birds of Japan. Annotationes Zoologicae Japonenses. 1908.
- 23) OGAWA, M.: Über die Blutparasiten der japanischen Vögel. Festschr. z. 25 jähr. Professor-Jubiläum des Herrn Prof. Dr. M. OGATA. 1910. (Japanisch.)
- 24) PROWAZEK, S.: Parasitische Protozoen aus Japan. Gesammelt von Dr. MINE in Fukuoka. Arch. f. Schiffs- u. Tropenkrankh. Bd. 14. 1910.
- 25) —: Beiträge zur Kenntnis der Protozoen und verwandten Organismen von Sumatra. Arch. f. Protistenk. Bd. 6 H. 2 1912.
- 26) —: Handbuch der pathogenen Protozoen. 1912.
- 27) ROSEBUSCH, F.: Kern und Kernteilung bei Trypanosomen und Halteridium. Beih. z. Arch. f. Schiffs- u. Tropenkrankh. Bd. 12 1908.
- 28) RUGE, R.: Untersuchungen über das deutsche Proteosoma. Centralbl. f. Bakt., Parasitenk. u. Infektionskrankh. Bd. 29 Nr. 5. 1901.
- 29) SCHAUDINN, F.: Generations- und Wirtswechsel bei Trypanosoma und Spirochaeta. Arb. a. d. kaiserl. Gesundheitsamte Bd. 20 H. 3. 1904.
- 30) SEEBOHM, H.: The Birds of the Japanese Empire. By HENRY SEEBOHM. 1890.
- 31) WASIELEWSKI, TH.: Pathogene Protozoen. 1908.
- 32) ZIEMANN, H.: Über Malaria- und andere Blutparasiten. 1898.
- 33) —: Malaria. Handb. d. Tropenkrankh. III. Von C. MENSE. 1906.
- 34) ZUPITZA, M.: Beitrag zur Kenntnis der Vogel- und Fischtrypanosomen Kameruns. Beih. z. Arch. f. Schiffs- u. Tropenkrankh. Bd. 13 Beih. 3. 1909.

### Tafelerklärung.

Alle Figuren sind nach konserviertem, mit GIEMSA's Eosin-Azur gefärbtem Material hergestellt. Vergr.: LEITZ homog. Ölimmersion achrom.  $\frac{1}{12}$ , Okular III. Vergr. ca. 1000fach.

#### Tafel 13.

- Fig. 1—33. Halteridium des Sperlings (Japan).  
 Fig. 1—7. Wachstum des Schizonten.  
 Fig. 1 u. 2. Jüngste Schizonten.

- Fig. 3 u. 4. Erwachsene Schizonten.  
 Fig. 5. Typische Form.  
 Fig. 6 u. 7. Sogenannte indifferente Form.  
 Fig. 8—13. Weibliche Form.  
 Fig. 14—16. Männliche Form.  
 Fig. 17 u. 18. Gregarinenähnliche Form aus der Milz.  
 Fig. 19. Eine Form, die fast die Trypanosomengestalt besitzt (Milz).  
 Fig. 20—26. Übergangsform zu der beweglichen Form des Halteridium in die bewegliche Form.  
 Fig. 27—31. Trypanosomenformen.  
 Fig. 28 u. 29. Vermehrungsstadien.  
 Fig. 32 u. 33. Parasiten phagozytiert.  
 Fig. 34—49. Hämoproteus (Halteridium) der Krähe (Japan).  
 Fig. 34—36. Schizontenwachstum.  
 Fig. 37 u. 38. ♂ Formen.  
 Fig. 39 u. 40. ♀ Formen.  
 Fig. 41—43. Andeutungen der sog. Doppelkernigkeit.  
 Fig. 44—46. Doppelinfektion.  
 Fig. 47 u. 48. Jüngere Parasiten, die am Ende zugespitzt sind.  
 Fig. 49. Trypanosomenform.

## Tafel 14.

- Fig. 50—76. Ein Proteosoma des Sperlings (Japan).  
 Fig. 50—53. Wachstum der Schizonten.  
 Fig. 54—57. ♂ Formen.  
 Fig. 58—60. ♀ Formen.  
 Fig. 61 u. 62. Kernlose Erythrocyten.  
 Fig. 63—68. Entstehung der männlichen Merozoiten.  
 Fig. 69—72. Entstehung der weiblichen Merozoiten.  
 Fig. 73. Junge ♂ Merozoiten.  
 Fig. 74 u. 75. Junge ♀ Merozoiten.  
 Fig. 76. Freie Formen des Macrogametocyten.  
 Fig. 77—95. Leucocytozoon des Sperlings (Japan).  
 Fig. 77—79. ♂ Formen.  
 Fig. 80—82. ♀ Formen.  
 Fig. 83. Reife ♀ Form mit dem sog. Nebenkern.  
 Fig. 84 u. 85. Freie Parasitenformen.  
 Fig. 86—93. Schizogonie.  
 Fig. 94. Merozoiten. a) ♂ Formen, b) ♀ Formen.  
 Fig. 95. Junger Merozoit von einer eosinophilen phagozytiert.  
 Fig. 96—104. Eine unbekannte Hämosporidie des Sperlings.  
 Fig. 105—109. Trypanosomen der Krähe.

Nachdruck verboten.  
Übersetzungsrecht vorbehalten.

## Kleinere Mitteilung.

---

### Remarks on the nature of the blepharoplasts or basal granules of flagella.

By  
E. A. Minchin.

---

In a recent number of this journal (Vol. 33 p. 21—44), Mr. A. PRINGLE JAMESON has described an interesting new Phytoflagellate which he has named *Parapolytoma satura*, and from his observations on the details of its structure and multiplication he has arrived at some conclusions, for the most part of a negative order, regarding the vexed question of the nature and homologies of the basal granules of the flagella. On the strength of the results obtained by him in this instance, Mr. JAMESON criticizes the theory advocated by me (but by no means original, so far as I am concerned), with regard to basal granules and centrioles, in my book "An Introduction to the study of the Protozoa". I will summarize briefly those statements of Mr. JAMESON that are relevant to the question, and then discuss their bearing on the points at issue.

The Flagellate studied by Mr. JAMESON is stated to possess a single nucleus and two basal granules which are situated at the surface of the body. From the basal granules two flagella of equal length take origin. The organism multiplies by dividing into four daughter-individuals within the pellicle of the original parent-individual. In this process of multiplication the nucleus divides twice successively by mitosis. At no stage in the division of the nucleus could any structure be found which could be interpreted as a centriole. When Mr. JAMESON says that *Parapolytoma satura* is characterized by the absence of a centriole he wishes "it to be understood that the absence is absolute". (What, it may be asked, is the alternative to absolute absence in such a case?)

In the process of multiplication of the Flagellate the two basal granules of the original parent-individual take no share whatever; they are found, when the process is complete, in one of the four daughter-individuals with the original flagella attached; the other three daughter-individuals are without basal granules or flagella, and each of them acquires subsequently new basal granules in the following manner: — "From the karyosome there is budded off a portion" which "probably divides into two". Later each individual has two paired granules which "have every appearance of typical basal granules. It is to be presumed that these have made their way through the [nuclear] membrane, having been budded off from the karyosome", but "it has been impossible to trace these paired granules from the time when they leave the nuclei until they arrive at the periphery of their respective bodies". When the process of multiplication is complete, "all four individuals are provided with basal granules. One has retained the old pair, . . . the other three have basal granules which have probably arisen in the manner just described".

It will be noticed that Mr. JAMESON's absolutism is not quite so pronounced in regard to the basal granules as it is with regard to the absence of a centriole in the nucleus. I am quite prepared, however, to accept all his statements of fact as a basis of discussion, and to delete the word "probably" wherever Mr. JAMESON feels himself obliged to make use of it.

We may now consider the theory to which Mr. JAMESON takes such strong objection, the view, namely, that blepharoplasts (basal granules) and centrioles are homologous bodies,<sup>1)</sup> that is to say, bodies of similar nature and common origin, differentiated primarily only as regards their function, and even in that respect but temporarily so, in many cases. My final and complete conversion to this view — for, as I have said, I have no claim whatever to have originated it — was brought about when it was shown in a number of cases that one and the same body could act alternately as a basal granule of a flagellum and as a centriole in the division of a nucleus. Had only one such case been brought forward it would have seemed to me more convincing proof of the identical nature of centrioles and blepharoplasts than any quantity of negative evidence, but as a matter of fact very many such cases are

<sup>1)</sup> Mr. JAMESON frequently speaks of blepharoplasts and centrioles as being "homologous" in his memoir, and quotes DOBELL also to this effect; but since he denies any phylogenetic significance to the word, as I understand him to do, he appears to me not to use the term homology in its usual sense, as implying genetic affinity, but rather with the meaning usually given to the word analogy. To make my position clear, I desire to state that whenever I speak of blepharoplasts and centrioles as being homologous, I mean that they are to be considered as modifications, or adaptations to special functions, of bodies primitively identical in nature and origin; just as I would consider the spiracle of fishes as homologous with the Eustachian canal of terrestrial vertebrates because both are derived from one and the same structure, namely the hyomandibular gill-cleft, though modified and differentiated by specialization for different functions; or (and this is a better analogy under the circumstances) just as the skin-denticles and the teeth of an Elasmobranch must be considered as homologous organs, though differentiated for special functions in different parts of the organism.



known to occur, both in Protozoa and in the cells of Metazoa. It is not necessary for me to cite these instances; most of them are ancient history now and are quoted in the text-books,<sup>1)</sup> including my "Introduction" already referred to. Quite recently, however, some fresh instances have been described; for example, it has been shown by Miss ROBERTSON (Phil. Trans. Ser. B Vol. 203 p. 174, pl. XIX, fig. 30) that in the multiplication of trypanosomes the basal granule of the flagellum can act as the centriole for the division of the kintonucleus, and WENYON (Arch. f. Protistenk. Bd. 31 p. 14, text-fig. III and IV) has found a similar state of things in the division of the kintonucleus of *Herpetomonas muscae-domesticae*. In view of the very important and indeed decisive evidence that these facts contribute towards the question of the relation of blepharoplasts and centrioles, I must express my extreme surprise that Mr. JAMESON has thought fit to ignore them entirely in his criticisms of the view that centrioles and blepharoplasts are homologous bodies; and still more that he "cannot find any evidence which proves" that blepharoplast and centrosome are one.

The fact that the basal granules have been shown in so many cases to be not merely similar to, but identical with, centrioles, seems to me to justify the demand that those who assert, for any given case, that these two bodies are of different origin and nature should bring forward very definite and positive evidence to support their contention. The homology has been established in so many instances that the burden of disproof lies on those who deny it. What evidence does Mr. JAMESON bring forward against such homology in the case examined by him? So far as I can perceive, after having read Mr. JAMESON's paper, he bases his argument upon two data, the one negative, the other positive.

The negative observation adduced is that the Flagellate in question has a nucleus which contains no centriole at any stage. I am quite unable, for my part, to see how this fact has the slightest bearing on the theory of the homology of centriole and blepharoplast. The condition of *Parapolytoma*, as described, could be fitted into my phylogenetic scheme in either of two ways. If we assume that there was originally a body which performed the function of centriole and blepharoplast alternately, it is surely not very difficult to suppose that this body might give up one of its two functions, if no longer required, while retaining the other. If, on the other hand, we assume that the original condition was one with two distinct bodies each with a specialized function, blepharoplast and centriole, it cannot be difficult to understand that either of them might vanish if not required. As to what may be the cause of the centriole disappearing, that is to say why it should be dispensed with in the nuclear division, it is impossible to offer any suggestion, but we know that centrosomes have disappeared in the flowering plants, and we know also that the nuclei of *Actinosphaerium* may divide with a centriole in some stages of the life-history and in other stages without a centriole. There is therefore no reason whatever why forms that have no centriole should be "left in outer darkness".

<sup>1)</sup> See WILSON, "The cell", second edition, 1904, p. 356 and fig. 167.

The positive observation on which Mr. JAMESON appears to base his criticism is that the new blepharoplasts of *Parapolytoma* are formed from the nucleus. If that be so we have a state of affairs very similar, and probably directly comparable, to the formation of a centrosome from the nucleus as a preliminary to the reducing divisions of *Actinosphaerium*. I have, for my part, always been of opinion that this peculiar fact, described with such exactness of detail by HERTWIG, is to be interpreted as indicating a former or ancestral condition in which *Actinosphaerium* liberated flagellated gametes, as is known to be the case in other Heliozoa. For some reason the gametes are no longer liberated but undergo reduction followed by autogamous copulation within the cyst, and only their centrioles, formed at this stage in the life-history and at no other stage, remain to indicate their former flagellated condition. But this is merely a phylogenetic speculation; we need not go beyond the established facts in our comparison. *Actinosphaerium*, possessing at a certain stage a nucleus without a centriole, generates a centriole from its nucleus; *Parapolytoma*, also without a centriole, generates blepharoplasts in a similar manner. Is this any disproof of the homology of centriole and blepharoplast? I should have thought on the contrary that it afforded additional support for the theory.

Mr. JAMESON refers to the species of *Monocercomonas* recently described<sup>1)</sup> by FRANÇA, and regarded by its discoverer as filling a gap in my phylogenetic scheme of the variations of flagellar attachment. Mr. JAMESON considers that it does not do so because it has four flagella, whereas in my diagram the stage in question was represented with a single flagellum. But if Mr. JAMESON had read the description of my diagram, he would have seen it stated that "for the sake of simplicity it is supposed that the animal has but a single flagellum". It makes no difference whatever to the theory supported by me whether the Flagellate has a single basal granule and flagellum, or as many of each of these organs as *Lophomonas*; blepharoplasts can remain single or, like centrioles, multiply by division. And with regard to the attachment of flagella to extranuclear or intranuclear centrioles, it is legitimate to draw attention to the analogy, which is very probably a true homology, presented by the Heliozoa; in such forms as *Actinophrys* the axopodia are centred on a centriole in the nucleus; in the *Acanthocystis*-type the axopodia are centred on an extranuclear centrosome.

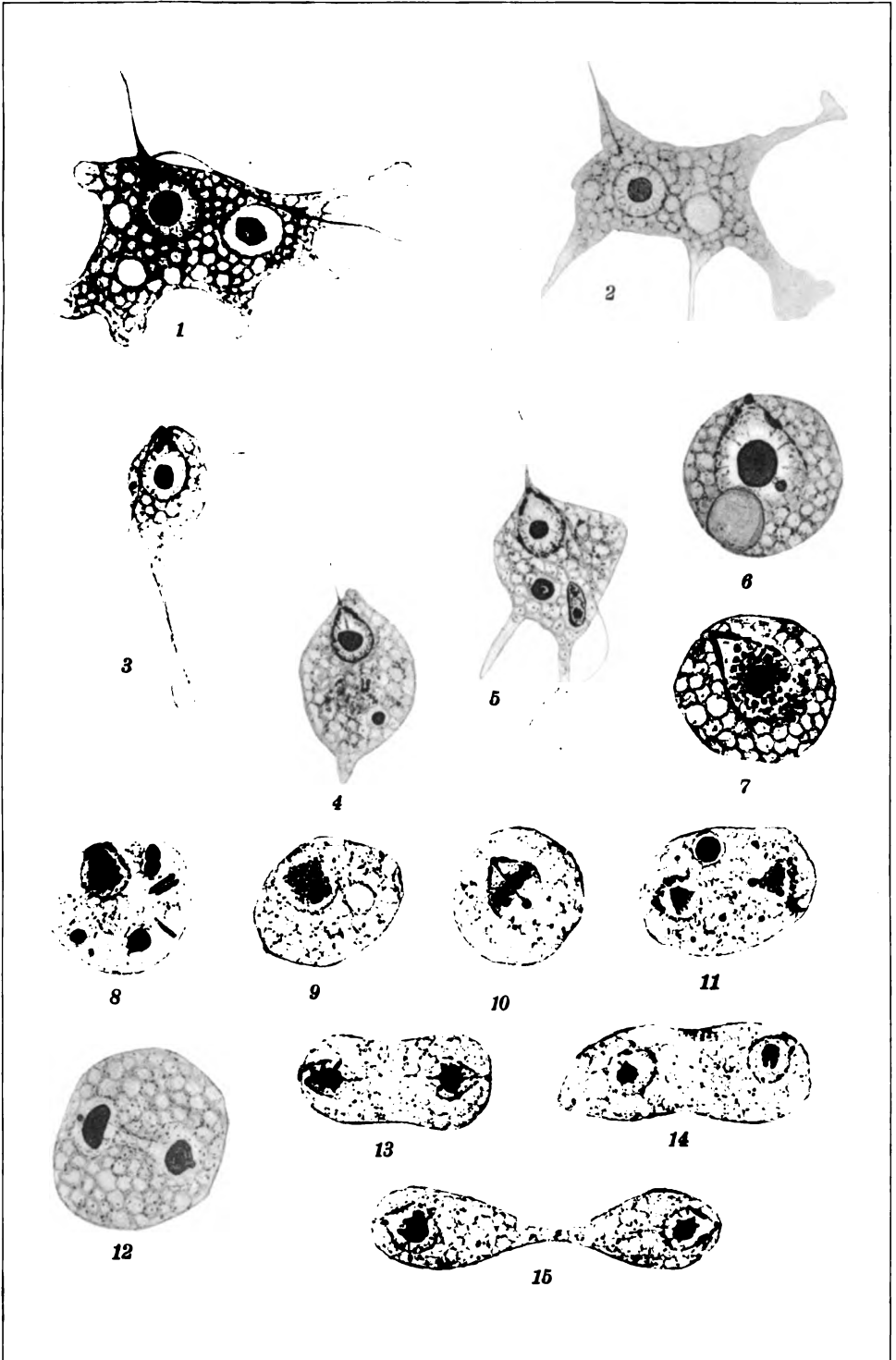
Finally, I regret that Mr. JAMESON should have accused me of a "perversion of facts" without giving any indication as to what are the facts that I have perverted, or in what way I have perverted them.

<sup>1)</sup> Mr. JAMESON makes much play with the adjective "curieux" applied by FRANÇA to my diagram, an epithet which, I must confess, puzzles me also. Je suis bien curieux de savoir pourquoi M. FRANÇA traite mon diagramme de "curieux". Since his discovery tends to show that a stage which I had regarded as hypothetical does actually exist, I should have regarded him as strengthening and supporting my phylogenetic views; and since he applies to my book the adjective "remarquable", I felt much gratified by his support. But his use of the term "curieux" leads me to suspect that "remarquable" was intended in a sarcastic sense, and I am unable at present to decide whether his adjectives are intended to express praise or blame. In any case his facts are very welcome to me.

Had he been so kind as to supply this information, I should have been happy to apologize for my conduct if I considered the charge proved, or to point out his mistake if I thought he was in error. In the absence of further information I am unable to take either of these two courses, since my conscience, at least, does not accuse me of any such perversion as Mr. JAMESON alleges.

In conclusion I would like to point out, though it should be superfluous to do so, that theories such as the one under discussion are not put forward as revealed, infallible dogmas, but merely as working hypotheses, which can only be considered valid so long as they cover the facts and explain them satisfactorily; if with increase of knowledge, they fail to do so, they must be cast aside at once and new general views substituted for them if possible. Mr. JAMESON admits that "it is possible that blepharoplast and centrosome are one". I assert that it is a well-established fact that in a great many cases blepharoplast and centrosome are one and the same body. It remains only to show that in some cases centrosome and blepharoplast are of different nature, in order to impair the general validity of a view which is founded on clear and definite instances. This in my opinion has not been done; at least not by Mr. JAMESON.

Lister Institute, London, S. W.  
23<sup>rd</sup> February, 1914.

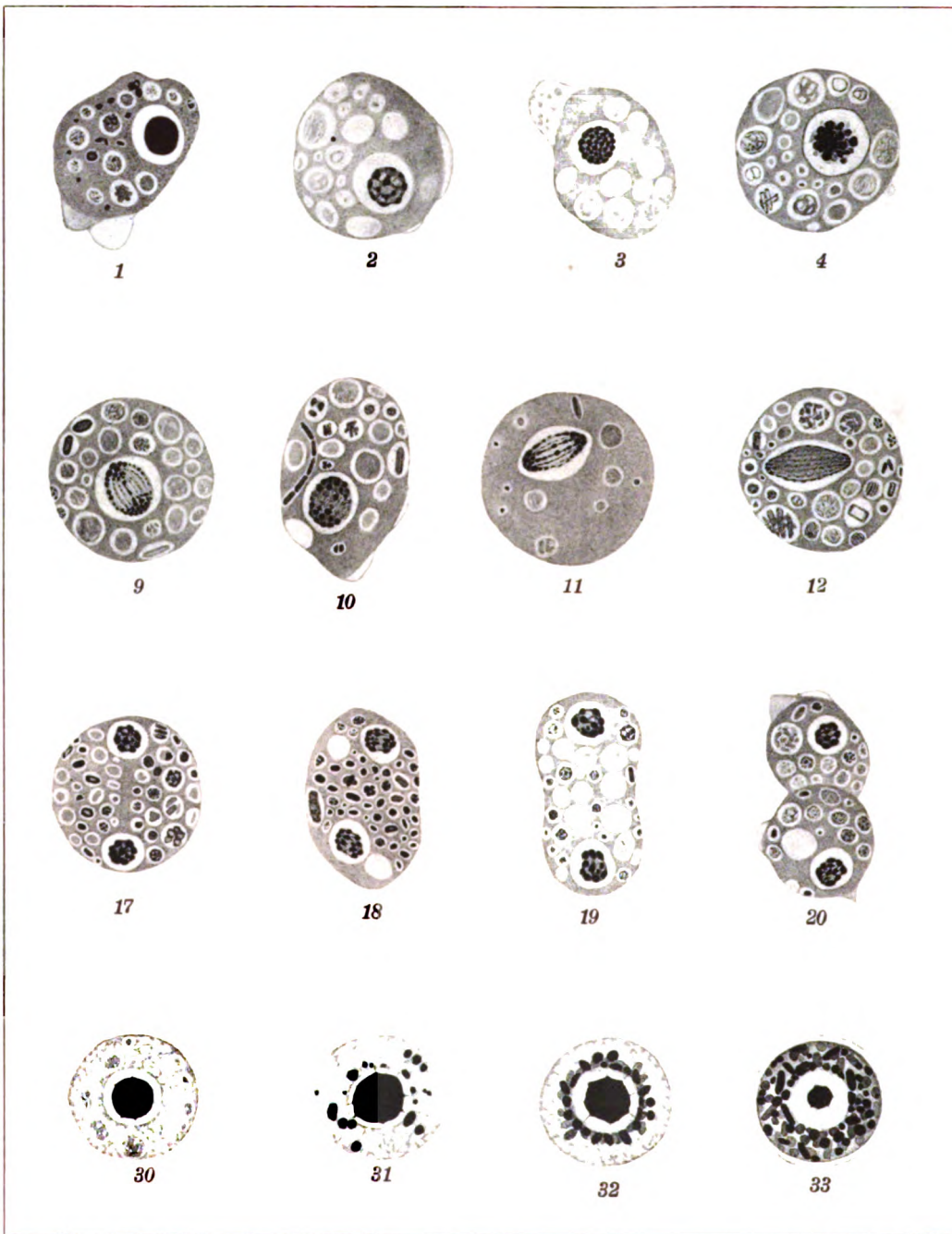


Nägler gez.

J. B. Obernetter, München, reprod.

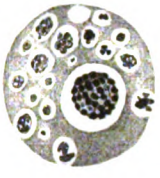






C. Dobell del.

Verlag von Gustav



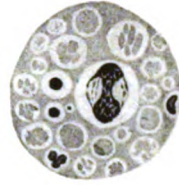
5



6



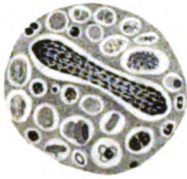
7



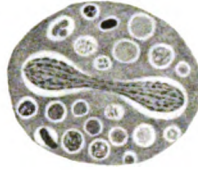
8



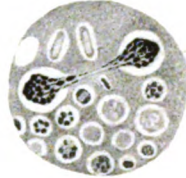
13



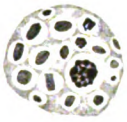
14



15



16



21



22



23



24



25



26



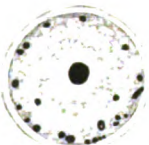
27



28



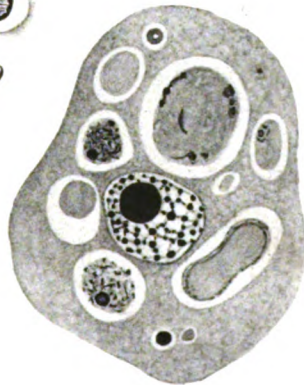
29



34



35

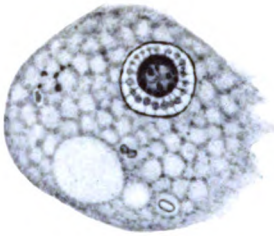


36

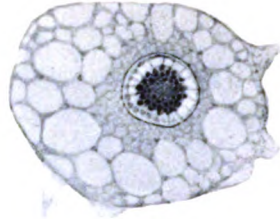




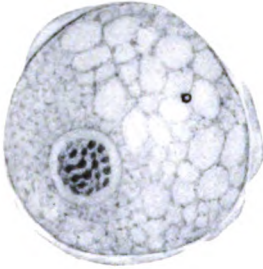




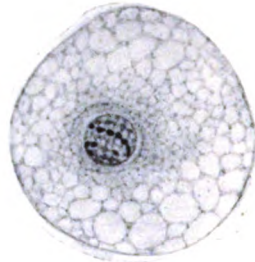
37



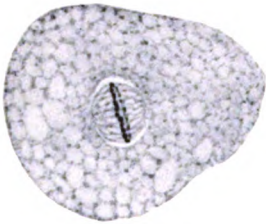
38



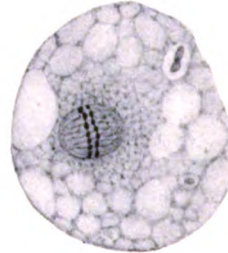
41



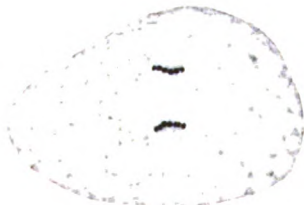
42



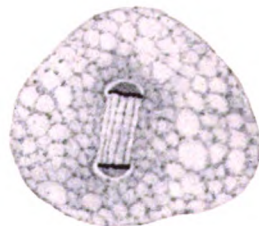
45



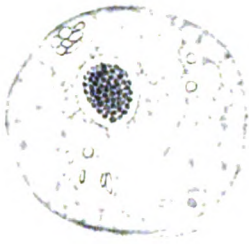
46



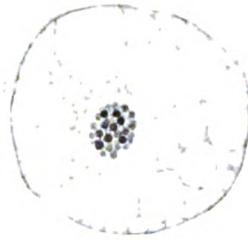
49



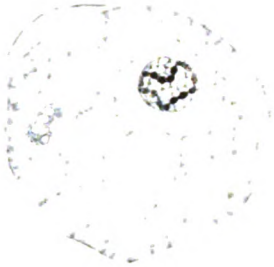
50



39



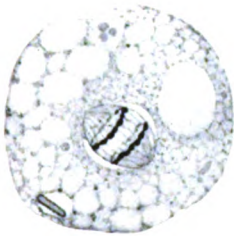
40



43



44



47



48



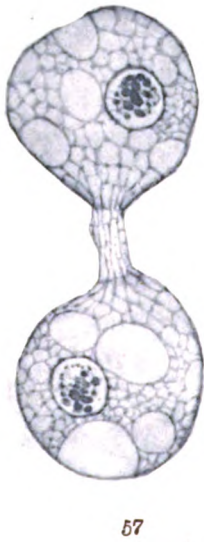
51



52

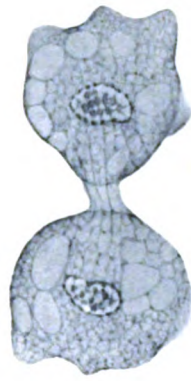




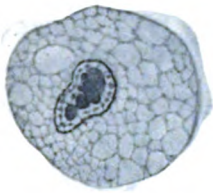




55



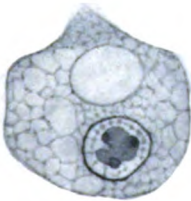
56



59



60

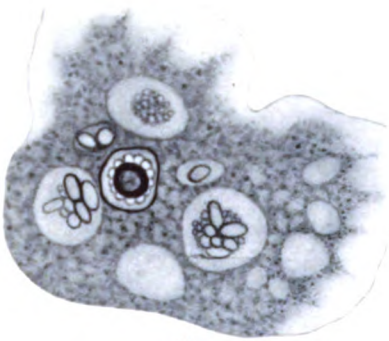


61

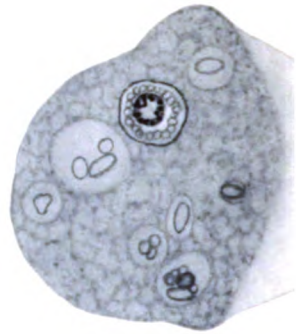








62



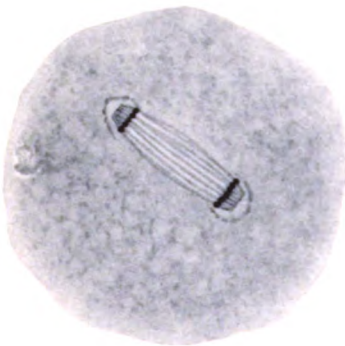
63



66



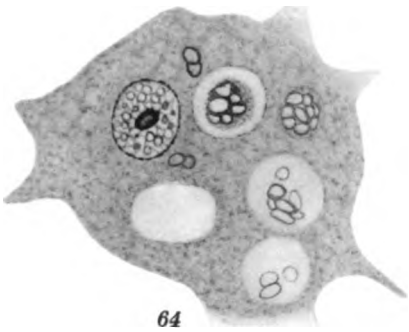
67



70



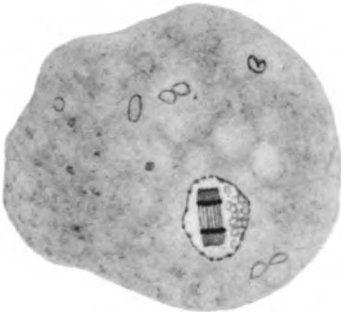
71



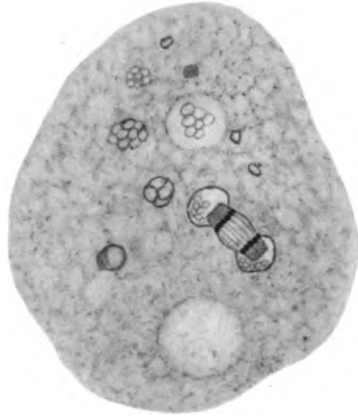
64



65



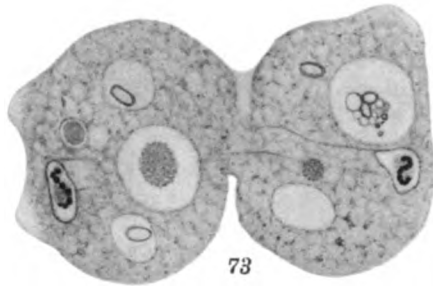
68



69

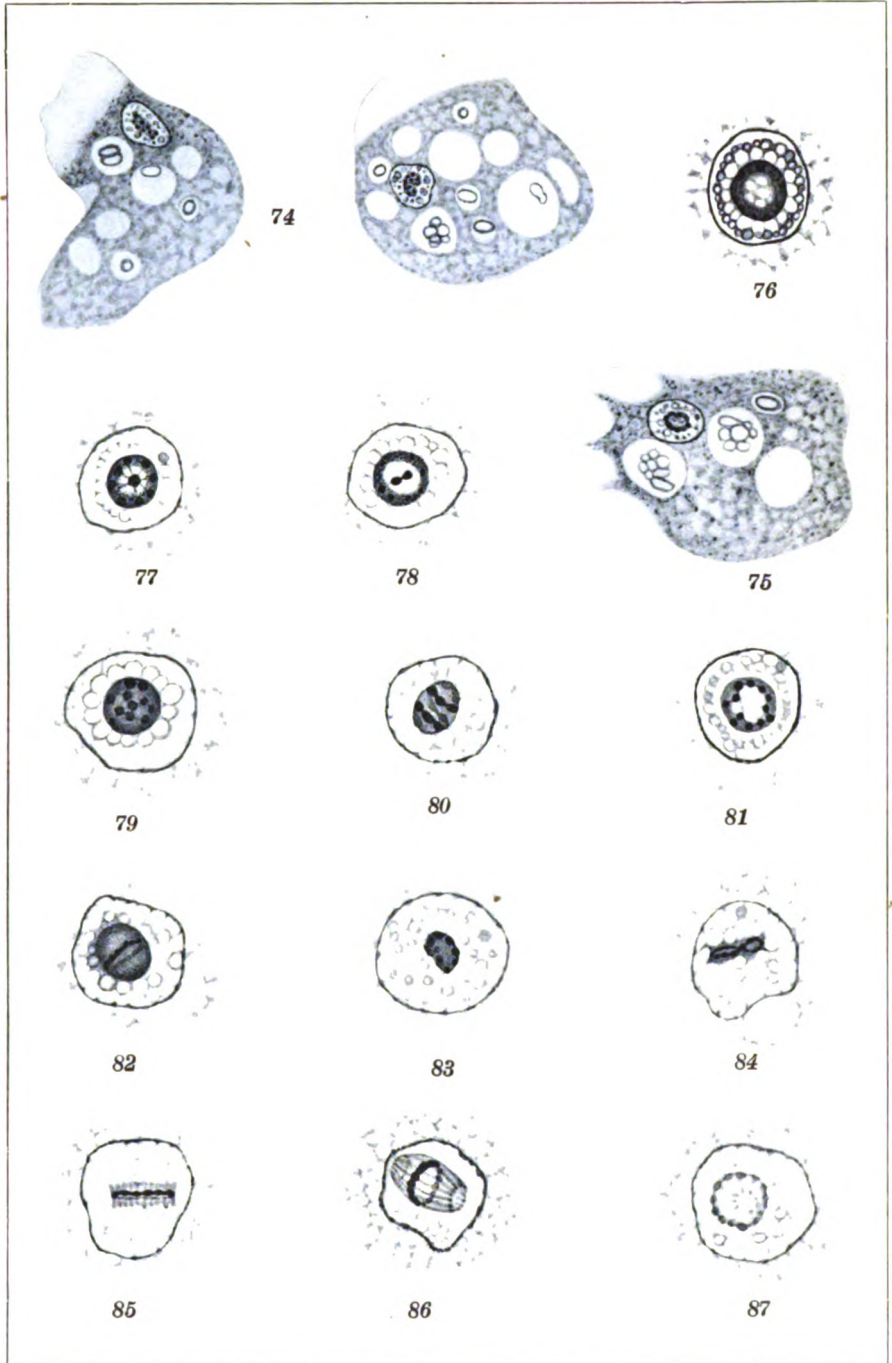


72



73





C. Dobell del.

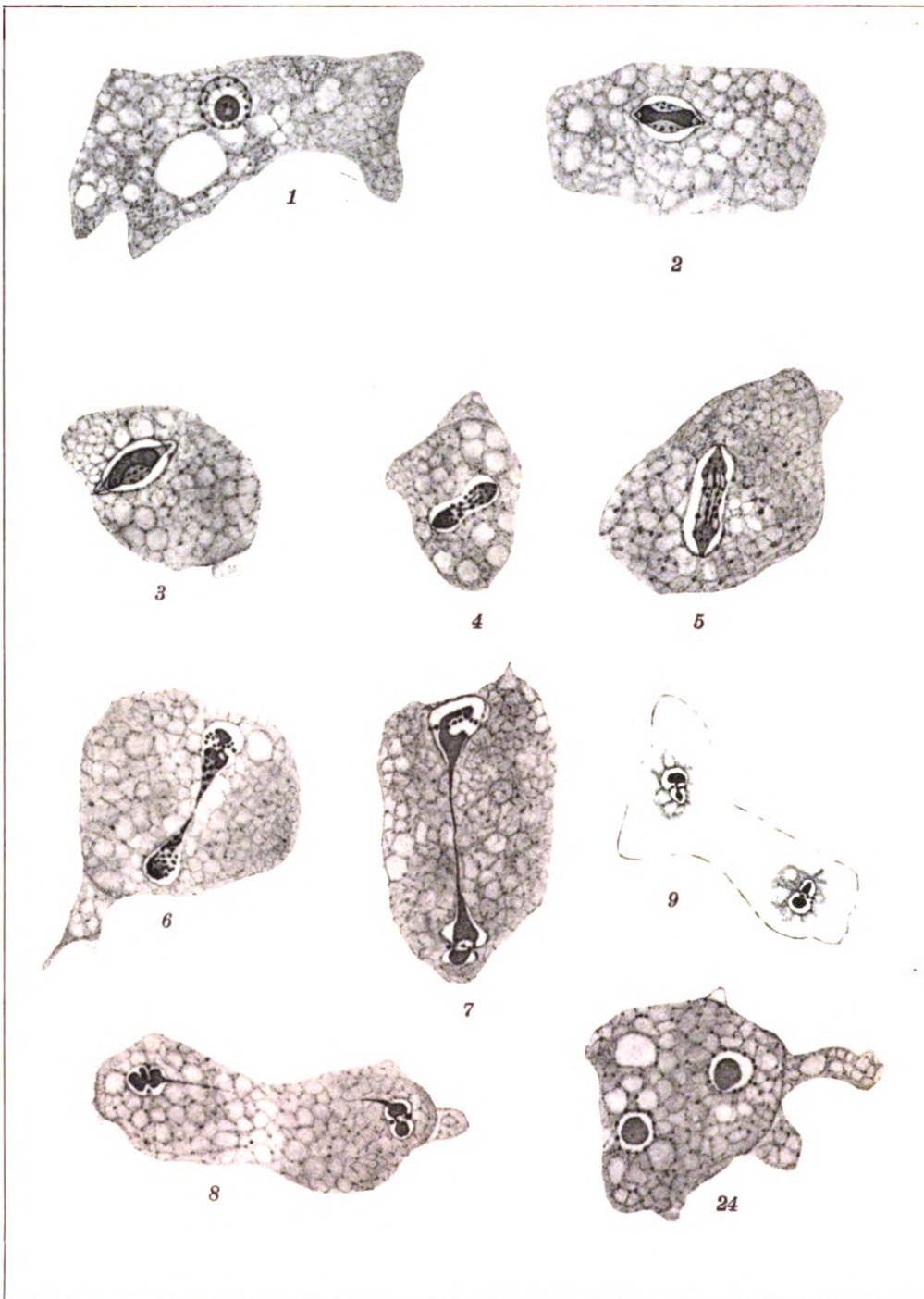
J. B. Obernetter, München, reprod.

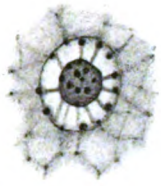
Verlag von Gustav Fischer in Jena.



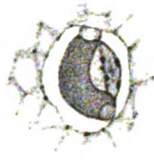




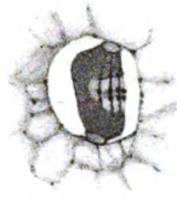




10



11



12



15



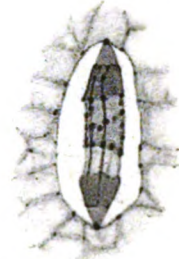
13



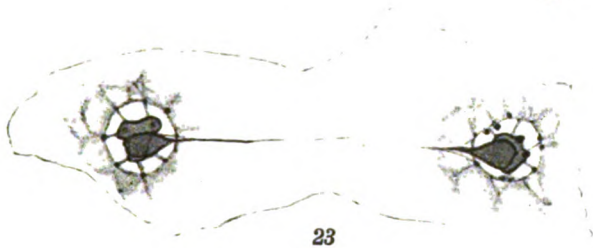
14



16



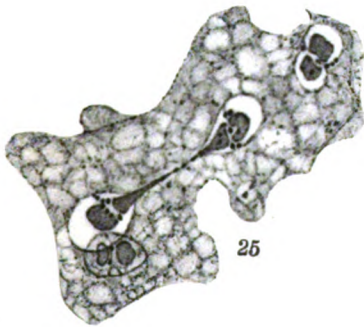
17



23



18



25



22



19



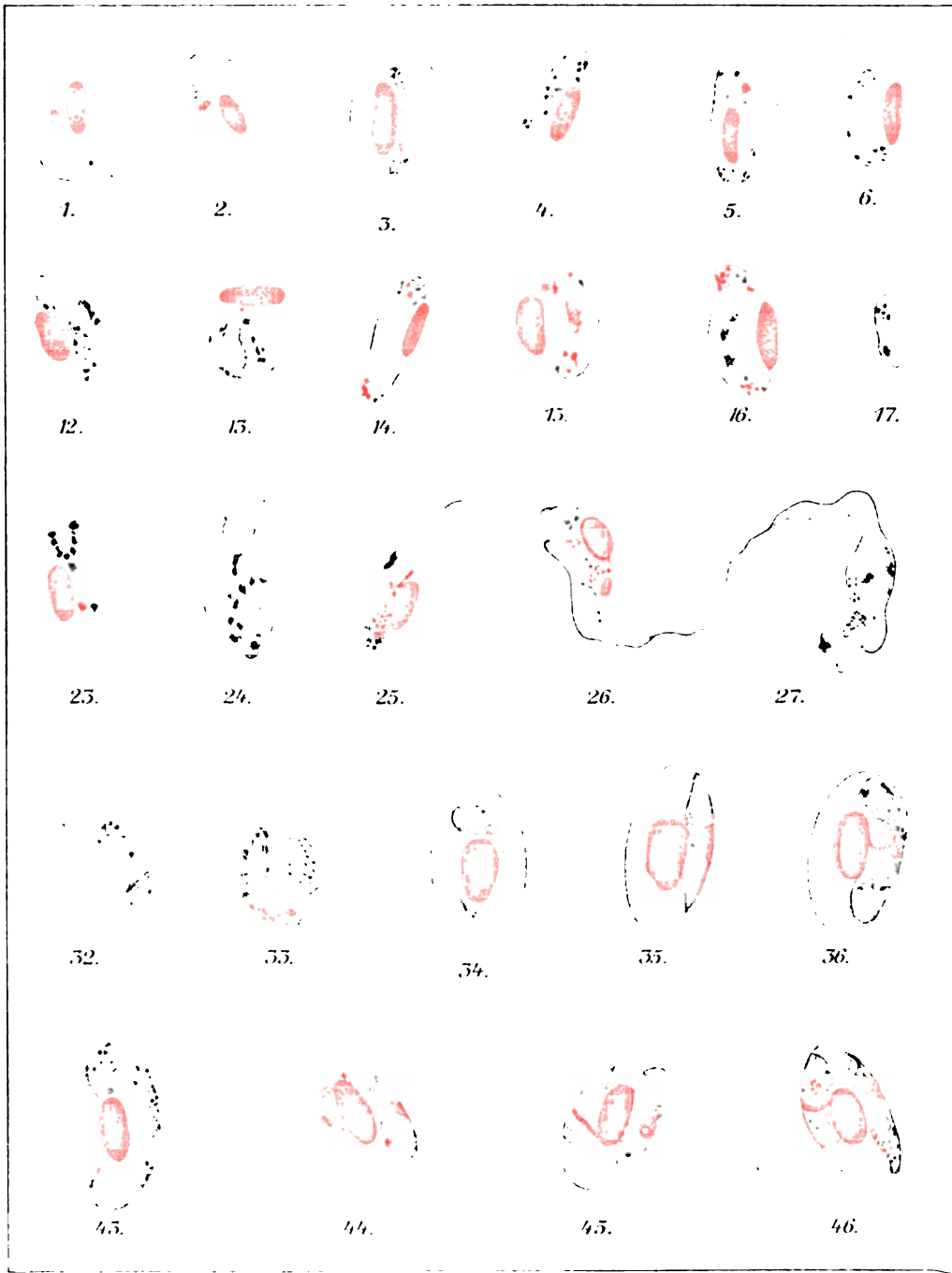
21

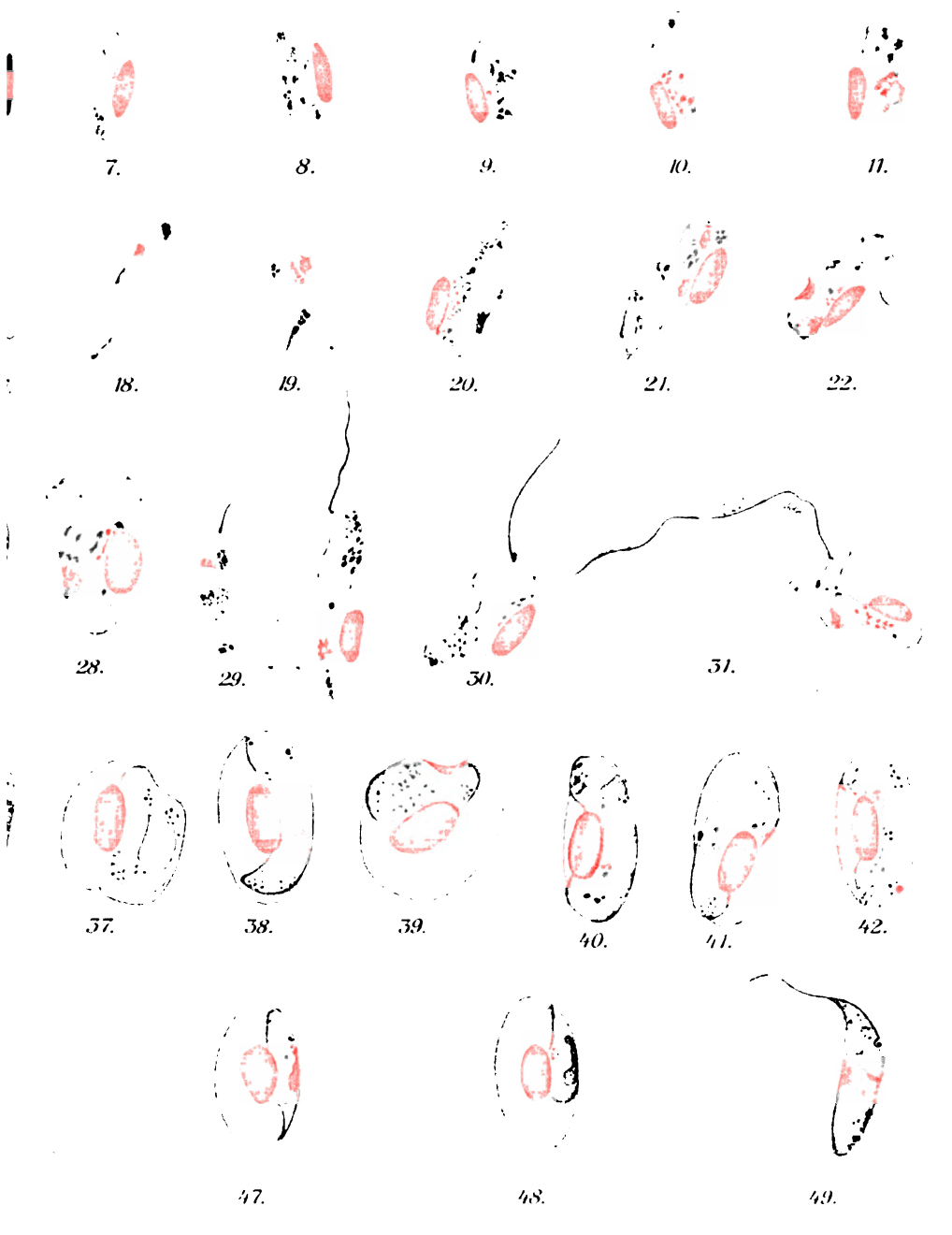


20





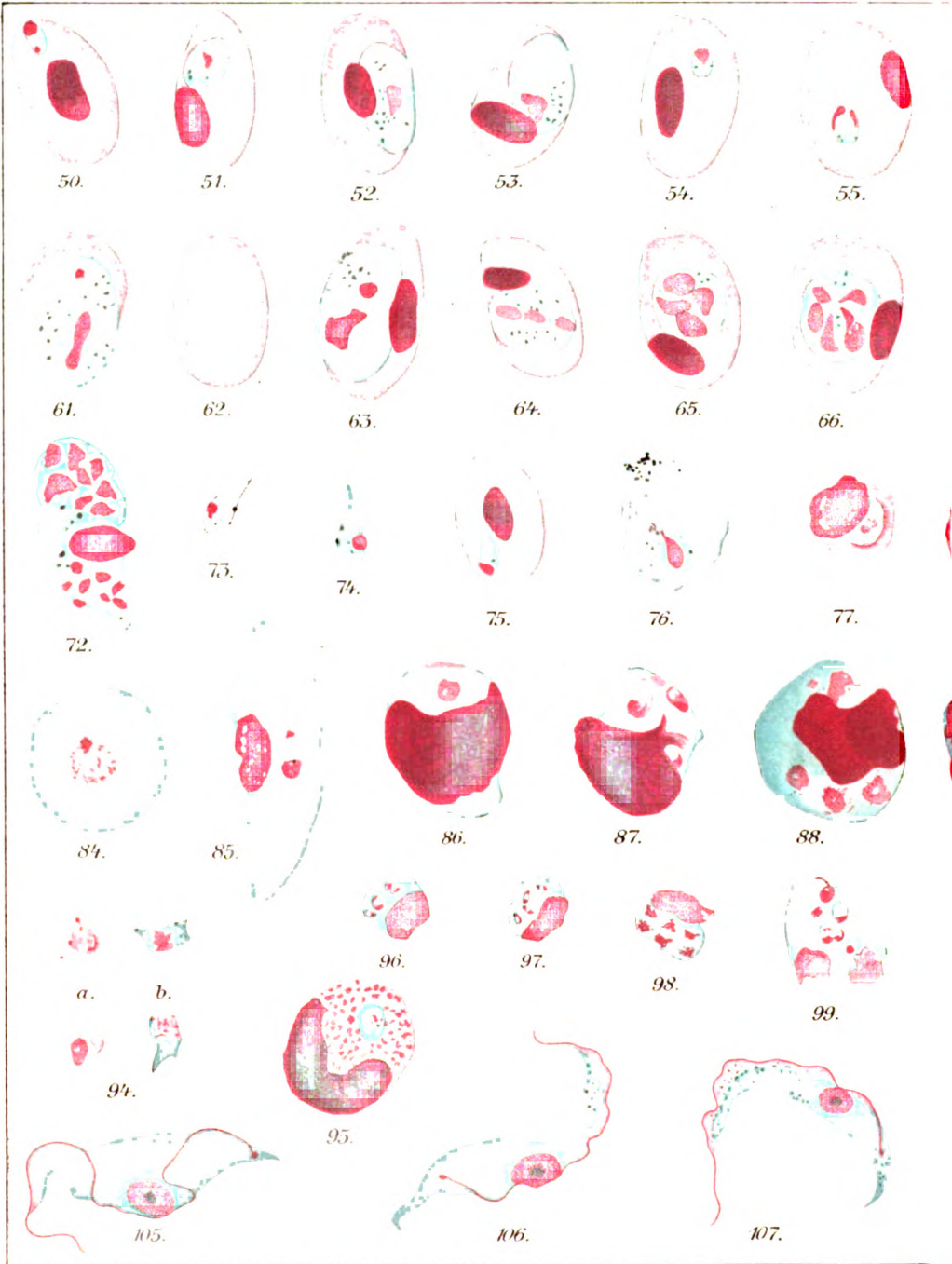






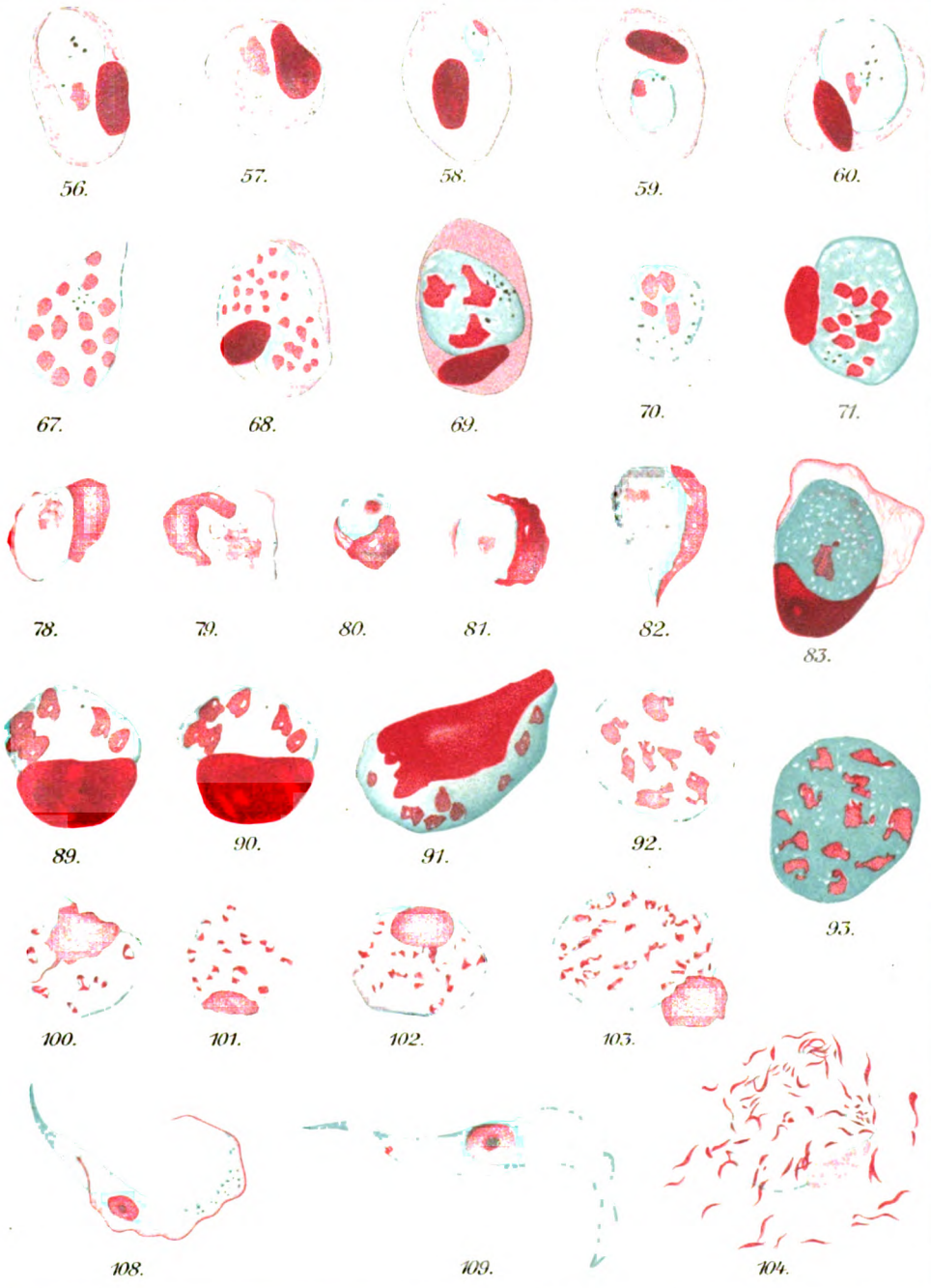






Mine gez.

Verlag von Gustav Fischer





*Nachdruck verboten.  
Übersetzungsrecht vorbehalten.*

Mitteilung der k. k. landwirtschaftlich-chemischen Versuchsstation  
in Wien, Abteilung VII.

***Ichthyophonus hoferi* PLEHN u. MULSOW,  
der Erreger der Taumelkrankheit der Salmoniden.**

Von

**Eugen Neresheimer und Carl Clodi.**

(Hierzu Tafel 15—17 und 15 Textfiguren.)

---

Im Sommer 1910 trat in einem Betonbassin im Besitztume des Herrn Dr. med. EDUARD CLODI in Traunkirchen (Salzkammergut) unter den dort gehaltenen Salmoniden eine eigenartige Fischkrankheit auf. Der erste Fall, der genauer beobachtet wurde, betraf einen dreisömmerigen Bachsaibling, der zunächst durch seine sonderbaren Schwimmbewegungen auffiel. Das Tier schwamm, wenn es aufgescheucht wurde, rasch einige Male in weitem Bogen herum, schien bald zu ermüden und legte sich dann stets auf die linke Seite, um nach verschiedenen langen Pausen dieselbe Bewegung wieder auszuführen. Auf den ersten Blick schien die Ursache dieser Bewegungsanomalie in einer stark ausgeprägten Wirbelsäulenverkrümmung zu liegen. Die eine der beiden Krümmungsstellen befand sich unmittelbar vor, die andere hinter der Rückenflosse. Diese selbst stand, von oben gesehen, fast horizontal und war vollständig bewegungslos. Beim Schwimmen zeigte sich eine beträchtliche Störung der Beweglichkeit des hinteren Körperabschnittes, von der Krümmungsstelle ab: von oben gesehen, überschritt die Schwanzflosse nie die Mittellinie nach links hin, während sie sehr starke Ausschläge nach rechts zeigte. Auch die Beweglichkeit der linken Brustflosse war nicht

intakt; sie stand rechtwinklig vom Körper ab und schien in dieser Stellung fixiert zu sein. Die intendierte Bewegung nach vorne und die exklusiv starken Ausschläge des hinteren Körperabschnittes nach rechts bedingten nun, daß das Tier nur kreisende Schwimmbewegungen im Sinne des Uhrzeigers ausführen konnte.

Das Verhalten von Rücken- und linker Brustflosse wies schon darauf hin, daß durch eine Skoliose allein nicht alles zu erklären sei; es mußten Veränderungen in der Muskulatur selbst vorliegen. Beim Betasten des Fisches zeigte sich denn auch die Muskulatur an der konkaven Seite der Krümmungsstelle ganz auffallend hart.

Zur selben Zeit fielen an einigen anderen, im gleichen Bassin eingegangenen Bachsaiblingen Veränderungen am Herzen auf. Dieses fühlte sich stets sehr hart an und zeigte sich mit kleinsten weißen Knötchen besäht. Wöchentlich gingen zwei bis vier Saiblinge ein, die stets die gleichen Erscheinungen aufgewiesen haben sollen, ohne daß zunächst eine eingehende fachmännische Untersuchung vorgenommen werden konnte. Als der zuerst geschilderte Saibling unter steter Abmagerung und Zunahme der nachweisbaren Skoliose einzugehen drohte, wurde er behufs Vornahme einer genauen Sektion getötet. Das Unglück wollte es, daß dieses Exemplar in einem unbewachten Augenblick von einer Katze entführt wurde, der es wieder abgejagt werden mußte. Dabei gingen leider Kopf, Herz, Leber und ein Teil der Eingeweide verloren.

Die Untersuchung des übriggebliebenen Fischkörpers ergab folgendes Resultat: Ein der Seitenlinie entlang geführter Schnitt zeigte die Seitenmuskeln innig durchsetzt von weißlichen, kugligen oder elliptischen Knötchen, deren Größe von mikroskopischer Kleinheit bis zu einer Länge von 2 mm und einer Breite von 0,5 mm schwankte. Besonders zahlreich waren die Gebilde an der Konkavseite der Krümmungsstellen; dort fand auch das Skalpell größeren Widerstand. Der Typus des Muskels war hier mehr dem einer Bindegewebsmasse gewichen. Die Schnitte durch die Muskulatur zeigten bei schwacher Vergrößerung eine auffallende Ähnlichkeit mit dem Bilde einer starken Trichinose. In den noch vorhandenen Resten der Eingeweide war nichts Pathologisches zu finden.

Um so stärker infiziert zeigten sich diese beim nächsten eingegangenen Bachsaibling. Dessen Herz war durch strangartige Adhäsionen mit der Umgebung verwachsen, grauweiß, und fühlte sich wie versteinert an. Die Niere zeigte sich als schwärzlicher, wie mit Sandkörnern bestreuter, an Volumen beträchtlich vergrößerter Strang (Textfig. 1).

Die Leber war schmutzig gelb verfärbt, von harter Konsistenz und das Gewebe schien ersetzt durch ein Konglomerat weißer Knötchen. Die Magenwand, ebenso das zwischen den Appendices pylorici gelegene Bindegewebe und der übrige Darm in seiner ganzen Ausdehnung, der atrophisch aussehende Hoden, Fettpolster und Bindegewebe der Orbita, nicht aber die Augenmuskeln, waren dicht mit Knötchen besetzt. Im Schädelknorpel, sowie in der Umgebung des statischen Organs war nichts Abnormes zu finden, wohl aber fanden sich die weiter unten näher beschriebenen Gebilde zahlreich im Liquor cerebrospinalis. Ausstrichpräparate aus dem Hirn, dem Glaskörper beider Augen und ganz besonders aus der Cerebrospinalflüssigkeit ergaben diesbezüglich sehr reiche Ausbeute. Der Darminhalt bestand aus Schleim ohne eine Spur von Nahrungsresten. In Strichpräparaten, die durch oberflächliches Abstreichen der Darmschleimhaut gewonnen wurden, zeigte sich eine Menge rundlicher Kapseln, aus denen mehr oder weniger zahlreiche, einfache oder verzweigte Fortsätze herausragten.

Die mikroskopische Untersuchung dieser Objekte brachte uns auf die Vermutung, daß es sich um die von HOFER (1893) kurz beschriebene Taumelkrankheit handle, deren Erreger nach HOFER's Abbildungen eine unverkennbare äußere Ähnlichkeit mit unseren Parasiten aufwies. Allerdings fehlten an den von uns beobachteten Fischen die äußeren Symptome, die HOFER zur Wahl des Namens „Taumelkrankheit“ veranlaßt hatten. Und obwohl das zweituntersuchte Objekt den Erreger in größerer Menge in allen Hirnteilen enthielt, fehlten hier jene schweren destruktiven Erscheinungen, die wir später bei der Untersuchung von Microtomschnitten in fast allen anderen Organen sahen. Aus diesem Umstande erklärt sich wohl eben das Fehlen der Taumelerscheinungen.

Bei Objekt I ist leider das Zentralorgan in Verlust geraten, so daß sich nicht positiv feststellen ließ, ob die Art und Form der Bewegungsstörung wirklich nur rein peripher und nicht etwa doch



Textfig. 1.  
Stark infizierte Niere eines  
Bachsaiblings. Nat. Größe.

auch teilweise zentraler Natur waren. Die enorme Infektion der Körpermuskulatur an den Krümmungsstellen und die Unbeweglichkeit der Flossen infolge der sehr starken Infektion jedes der Flossenmuskeln scheinen uns eine ausreichende Erklärung für die erste Annahme zu liefern. Objekt II hatte keinerlei auffallende Bewegungsstörung gezeigt.

Die beiden ersten zur Untersuchung gelangten Objekte zeigten also einen ganz auffallenden Unterschied in der Lokalisation des



Textfig. 2.

Taumelkranke Bachforelle mit scheinbarer Skoliose, von unten und von oben gesehen.

Ca.  $\frac{1}{3}$  nat, Größe.

Parasitenbefalles: bei dem einen war fast ausschließlich die Körpermuskulatur, bei dem anderen fast ausschließlich die Eingeweide infiziert. Der letzterwähnte Befund erwies sich im Verlauf unserer Untersuchungen als der weit häufigere; nur selten kam uns wieder ein Fisch mit überwiegendem oder gar ausschließlichem Befall der Muskulatur in die Hände. Ein Exemplar mit einer deutlich ausgesprochenen doppelten Verkrümmung der Längsachse zeigt die Textfig. 2.

Als Prädilektionsstelle erwies sich bei unserem Materiale vor allem das Herz, das nicht selten allein, bei Allgemeininfektionen fast stets am stärksten befallen war; auch Niere und Leber sind bevorzugte Sitze der Parasiten. Jedoch fanden wir die Cysten in fast allen Organen, mit Ausnahme der Augenlinse, der Knochen und der Haut.

Die Untersuchungen wurden z. T. in Traunkirchen, zum größeren Teil im Laboratorium der k. k. landwirtschaftlich-chemischen Versuchsstation in Wien, Abteilung 7, ausgeführt, wo uns die nötigen Aquarien und sonstigen Behelfe zur Verfügung standen.

Seit der Entdeckung der Taumelkrankheit und ihres Erregers durch HOFER (1893) sind erst neuerdings wieder einige kurze Mitteilungen über das gleiche Objekt erschienen. M. ROBERTSON (1908) beschreibt einen ähnlichen Parasiten aus *Pleuronectes flesus* L., der Flunder, und 1909 aus der Meerforelle, *Trutta trutta* (L.). In einer

Nachschrift teilt ROBERTSON noch mit, das der gleiche Parasit auch in großer Menge in einem Schellfisch (*Gadus aeglefinus* L.) gefunden wurde. Die Microphotographien von M. ROBERTSON lassen ohne allen Zweifel erkennen, daß der Parasit der Meerforelle mit dem von uns studierten identisch ist. Über die Entwicklung des Organismus bringt ROBERTSON keine Angaben; sie rechnet ihn zu dem Genus *Ichthyosporidium* CAULLERY und MESNIL, ohne der von ihr gefundenen Species einen Namen beizulegen.

AUCH LAVERAN und PETTIT (1910) haben offenbar unseren Parasiten vor sich gehabt; sie fanden ihn in Regenbogenforellen, die in einer französischen Fischzuchtanstalt massenhaft eingingen. Auch diese beiden Forscher fanden hauptsächlich das Herz und die Leber (sowie die Umgebung der Appendices pylorici) infiziert, das Gehirn viel seltener und spärlicher. Sie beschreiben das massenhafte Auftreten der Parasiten namentlich in der Leber, die sie als weiße Pünktchen durchsetzten. Sie unterscheiden die zahlreichen bläschenförmigen, mit einem punktförmigen Nucleolus versehenen Kerne, sowie andere färbbare Plasmaeinschlüsse, ferner eine hyaline und die vom Wirt selbst produzierte sekundäre fibröse Hülle. Im Blute finden sie etwa 10  $\mu$  große, nicht näher beschriebene Körperchen, durch deren Einspritzung in die Leibeshöhle die Infektion zu übertragen sei. Dieselben Körperchen sollen auch mit den Fäces ausgeschieden werden, und die Übertragung der Krankheit soll normalerweise durch die Aufnahme dieser Körperchen per os erfolgen. Sie stellen den Parasiten, ohne ihn zu benennen, vermutungsweise in die Nähe der Haplosporidien, betonen aber, daß gewisse Details der Struktur für eine Zugehörigkeit zum Pflanzenreich sprechen. Kulturversuche in künstlichen Medien sind ihnen nicht gelungen.

PLEHN und MULSOW (1911) haben dagegen besonders in dieser Richtung erhebliche Erfolge erzielt; durch Kultur in Gelatine und in Bouillon haben sie die pflanzliche Natur des fraglichen Organismus sichergestellt und stellen ihn zu den Phycomyceten, in die Nähe der Chytridinidae. Sie nennen ihn *Ichthyophonus hoferi*.

In den Kulturen sowie in aseptisch aufbewahrten Gewebestückchen zeigt der aus der Cyste austretende Organismus nach PLEHN und MULSOW zunächst „pseudopodienartige Fortsätze, die dann zu langen, dünnen Zweigen auswachsen, welche mycelartig sich durchflechten können. Die Sprosse sind von einer festen, durchsichtigen Hülle umgeben, die sich — im Gegensatz zur derben Kapsel des ruhenden Parasiten — nicht färbt. — Die Hülle stellt einen Schlauch dar, der anfangs vom Parasiten ganz ausgefüllt



wird; bald aber zieht dieser sich zusammen und konzentriert sich an der Spitze des Schlauchs, dessen leerer Teil noch eine Zeitlang sichtbar bleibt. An seinem Ende bildet sich eine kugelige Anschwellung, die sich endlich ganz abschnürt und dann eine derbere Membran erhält. So entsteht im Gewebe von einem einzelnen Parasiten aus eine ganze Kolonie . . ." (loc. cit. p. 66, 67 Fig. 2—6).

Diese Befunde von PLEHN und MULSOW können wir vollinhaltlich bestätigen.

PETTIT (1911) macht gegenüber PLEHN und MULSOW auf die diesen Forschern offenbar unbekannt gebliebenen Arbeiten von ROBERTSON aufmerksam und verteidigt die Stellung der Parasiten zur Gattung *Ichthyosporidium*. Übrigens hat schon DOFLEIN (1909) darauf aufmerksam gemacht, daß zwischen dem Erreger der Taumelkrankheit und den Ichthyosporidien eine bemerkenswerte Ähnlichkeit bestehe. Er vereinigt die „wurstförmigen Parasiten“ der Rotatorien und Würmer, die Gattung *Bertramia* CAULLERY und MESNIL und die Gattung *Ichthyosporidium* nach dem Vorgange von CAULLERY und MESNIL (1905) zu der Familie der Bertramiidae. In der neuen Auflage seines Lehrbuches der Protozoenkunde (1911) kommt er unter Berücksichtigung der Ergebnisse von PLEHN und MULSOW zu denselben Schlußfolgerungen.

Auf Grund unserer neuen Resultate über den Entwicklungscyclus des Erregers der Taumelkrankheit können wir uns dieser Ansicht der verschiedenen Forscher nicht anschließen. Die von CAULLERY und MESNIL 1905 für zwei Parasiten aus marinen Fischen geschaffene Gattung *Ichthyosporidium* zeigt doch einen wesentlich abweichenden Entwicklungsgang; die Bildung von Sporozoen bei *I. gasterophilum* C. u. M. und die Sporulation von *I. phymogenes* C. u. M. lassen diese Organismen den Sporozoen immerhin näher verwandt erscheinen, während wir es bei unserem Parasiten offenbar mit einem echten Pilz zu tun haben. Auch *Bertramia asperospora* (FRITSCH), die wir aus eigenem Studium kennen, scheint uns zu dem in Rede stehenden Parasiten keine näheren Beziehungen zu haben. Wir glauben daher an dem von PLEHN und MULSOW gegebenen Namen festhalten zu sollen.

Zur Untersuchung der Gewebe bedienen wir uns fast ausschließlich der Schnittmethode. Zur Färbung der Paraffinschnitte erwiesen sich Alaun-Hämatoxylin nach EHRLICH und Hämalaun für Übersichtsbilder als sehr brauchbar; in gewissen Fällen leistete Nachfärbung mit Eosin gute Dienste. Zur deutlichen Sichtbarmachung der Kerne eignete sich nur Eisen-Hämatoxylin. Mit anderen Hämatoxylinen färben sich die von LAVERAN und PETTIT erwähnten

anderweitigen Plasmaeinschlüsse weit stärker als die Kerne. Die hyaline Hülle der Cysten färbt sich gut mit Vesuvin (Bismarckbraun); auch in Hämalunpräparaten hebt sich bei Nachfärbung mit Vesuvin diese Hülle sehr scharf von allem anderen ab. Zur Darstellung der nicht in die Cyste eingeschlossenen, resp. der aus der Cystenhülle austretenden und der die Darmwand durchwandernden Parasiten sagte uns GIEMSA-Färbung am besten zu. Der Parasit färbt sich dabei leuchtend blau und ist bei schwachen Vergrößerungen ohne weiteres von allen normalen Gewebselementen zu unterscheiden. Auch beim Aufsuchen der kleinsten Stadien, sowohl der frei im strömenden Blute befindlichen, wie der eben im Gewebe zur Ruhe gekommenen, ist diese Färbung geradezu unentbehrlich. Für den erwachsenen, in der Cyste eingeschlossenen Parasiten dagegen, wie man ihn gewöhnlich findet, ist die Färbung nach GIEMSA nicht besonders günstig. In diesem Stadium färbt sich der Cysteninhalte nur ganz schwach hellblau, so daß der Parasit im Präparat zwar sofort als heller Fleck auffällt; aber irgendwelche Details seiner Struktur sind nicht zu erkennen. Zum Studium der pathologischen Veränderungen im Gewebe des Wirtes ist Hämalun-Eosin das Beste. Wir haben noch eine große Menge anderer Farbstoffe und Farbstoffkombinationen versucht, da uns für manche Fragen die mit dem oben genannten erzielten Resultate nicht vollauf befriedigten; wir haben aber durch keinen dieser Versuche einen besonderen Vorteil erreicht.

Aus unseren zahlreichen Präparaten war nun das eine vor allem festzustellen, daß die Invasion des Parasiten in ein Gewebe zuerst Entzündung und bei längerer Dauer der Erkrankung Granulombildung zur Folge hat. Am deutlichsten ausgeprägt sind die pathologischen Veränderungen am Herzen. Die Sektion gleichaltriger Fische ergab schon hinsichtlich der Herzgröße derartige Differenzen, daß sie dem Laien auffielen: einerseits bis auf das  $2\frac{1}{2}$  fache vergrößerte, andererseits um mindestens die Hälfte verkleinerte, steinharte, sandig anzufühlende Herzen.

Der Befund an Schnittpräparaten ergab stets die Kombination akuter und chronischer entzündlicher Veränderung des Muskelgewebes unter Bildung von Granulomen. Das Muskelgewebe ist teilweise kleinzellig infiltriert, im Zerfallen begriffen und ersetzt durch saftreicheres oder schon derberes Bindegewebe. Die Bildung sehr zahlreicher Herde resp. die damit verbundene entzündliche Infiltration und Bindegewebshyperplasie erklärt die primär stattfindende Vergrößerung, die narbige Schrumpfung die Volumsverminderung des befallenen Organes. Der den Krankheitsprozeß verursachende Organismus wirkt

also primär entzündungserregend, d. h. er führt zur kleinzelligen Infiltration des Gewebes, zur Nekrose desselben und zur Bindegewebsneubildung. Der fortwachsende Erreger wird dann einzeln oder in Gruppen von einem bindegewebigen Walle eingeschlossen; das Ende des Prozesses ist im allgemeinen narbige Schrumpfung des befallenen Wirtsgewebes. In noch nicht der narbigen Schrumpfung anheimgefallenen Granulationsherden finden sich stellenweise noch innerhalb der Bindegewebskapsel freiliegende nekrotische Teile des befallenen Parenchyms, so in Leber, Niere usw.

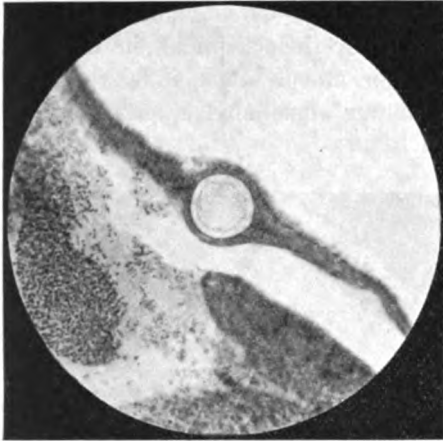
Meist findet man in den Schnitten das scheinbare Endstadium des Prozesses, die fibröse Kapsel, und in sie eingeschlossen einen einzelnen Parasiten oder eine ganze Kolonie. In den Wintermonaten ist, außer bei neuinfizierten Fischen, ein anderes Bild überhaupt kaum zu finden. Die Fortflanzung durch Sprossung tritt nach unseren Erfahrungen während der kalten Jahreszeit so gut wie gar nicht auf; offenbar verlangt sie eine gewisse Minimaltemperatur des umgebenden Mediums. Im Sommer dagegen ist diese weiter unten näher zu schildernde Art der vegetativen Fortpflanzung sehr häufig zu beobachten und führt natürlich zur weiteren und rascheren Ausbreitung der erwähnten pathologischen Prozesse.

Alle Organe zeigen bei starkem Befalle fast gleiche Krankheitserscheinungen.

Textfig. 1 stellt eine stark infizierte, reichlich mit weißen Knötchen besetzte, geschrumpfte Niere dar. Die Milz zeigte sich weniger häufig stark befallen, jedoch kommt auch dies ab und zu vor. Der Darmkanal ist oft in seiner ganzen Ausdehnung mit Parasiten bedeckt, die teils in der Muskelschicht, teils in der Schleimhaut sitzen und Granulombildung hervorrufen. Auf die Rolle der Magen-Darmwand als Durchgangsstation bei der Wanderung der Parasiten wird weiter unten einzugehen sein. In der Wand der Gallenblase (Textfig. 3) fanden wir gelegentlich einige Cysten, ebenso in der Schwimmblasenwand. Die Blutgefäßwände sind meist frei; jedoch zeigt Textfig. 4 deutlich eine in der Wand des Bulbus arteriosus sitzende Cyste.

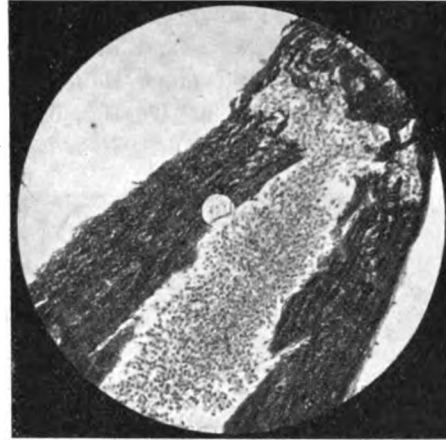
In den Kiemen fanden sich öfters reichlich Cysten, teils zwischen zwei respiratorische Fältchen gelagert, die dann häufig miteinander verwachsen und den Parasiten vollständig einschließen, teils in das Lymphgefäß eingelagert, das jedes Kiemenblättchen der Länge nach durchzieht. Durch ihr rasches Wachstum treiben diese Parasiten das Kiemenblättchen an einer Stelle zu unnatürlichem Umfange auf und komprimieren die Blutgefäße, so daß bei entsprechendem Sitze

der Cyste und reichlichem Befalle der Tod durch Erstickung eintreten kann. Bei unseren Infektionsversuchen fanden wir u. a. einen



Textfig. 3.

Textfig. 3. Cyste in der Wand der Gallenblase. Alaunhämatoxylin nach ENHLICH. Vergr. ca. 120.

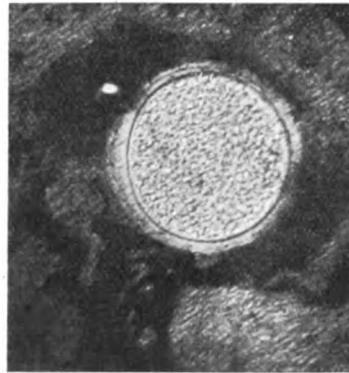


Textfig. 4.

Textfig. 4. Junge Cyste in der Wand des *Bulbus arteriosus*, am 14. Tage nach der Fütterung. Hämatoxylin-Eosin. Vergr. ca. 30.

Regenbogenforellen-Jährling, der vor 15 Tagen mit infiziertem Materiale gefüttert worden war, mit typischen Erstickungssymptomen tot auf: der Mund war weit offen, die Kiemendeckel abgespreizt. Die Kiemenblättchen waren, wie sich bei der Untersuchung zeigte, dicht mit Cysten besetzt (Taf. 16 Fig. 11).

Im Auge finden sich die Parasiten im Glaskörper und der Retinalschicht, gelegentlich auch in der Sklera. In ungeheurer Menge aber fanden sie sich häufig in der sog. Chorioidaldrüse. In Nativpräparaten aus der Pigmentschicht des Auges war übrigens die destruktive Wirkung des Erregers auch auf die Pigmentzellen deutlich wahrzunehmen. Die

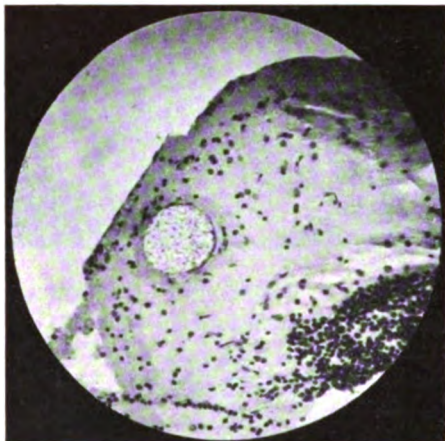


Textfig. 5.

Cyste im Ausstrich aus dem Augennern, von Pigmentzellen umgeben. Nach dem Leben. Vergr. ca. 120.

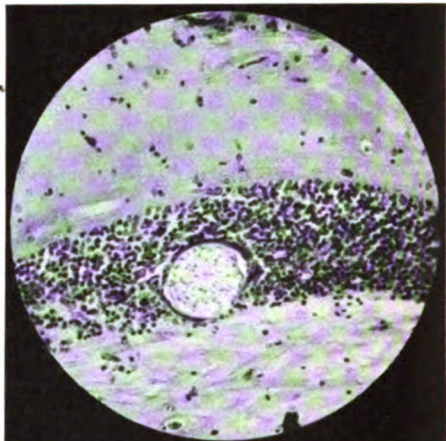
Zellen erscheinen zerfallen und umgeben den Parasiten in Form eines schwarzen Detritus (Textfig. 5).

Auch im Sehnerven finden sich gelegentlich einzelne Cysten. Im Gehirn, sowie im verlängerten Mark fanden wir einmal große Ansammlungen von Cysten; leider sind wir jedoch nicht in der Lage, das Bild eines Dauerpräparates von einem stark infizierten Hirn zu bringen. Textfig. 6 u. 7 zeigen nur einzelne Exemplare in Rinde und Mark des Gehirnes.



Textfig. 6.

Textfig. 6. Schnitt durch das Gehirn; Cyste in der Rinde. E.H. Vergr. ca. 130.



Textfig. 7.

Textfig. 7. Schnitt durch das Gehirn; Cyste im Mark. E.-H. Vergr. ca. 130.

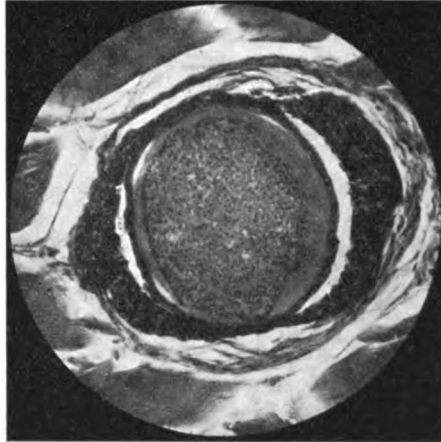
Indem wir uns nun der Beschreibung des *Ichthyophonus hoferi* zuwenden, sei zunächst erwähnt, daß wir ihn hüllenfrei und mit Hülle finden, je nach dem Entwicklungsstadium, in dem er sich eben befindet. Das bei Sektionen am häufigsten anzutreffende Stadium ist das der Cyste. Die Hülle derselben besteht, wie Taf. 16 Fig. 16 deutlich zeigt, aus mehreren Schichten. Die Cysten bei schon länger infizierten Fischen sind im Durchmesser 110—210  $\mu$  groß, im Mittel etwa 140—150  $\mu$ . Das Cytoplasma erscheint meist fein granuliert; bei günstiger Konservierung sieht man, namentlich an solchen Schnitten, die eine Ectoplasmakappe abgeschnitten haben, sehr deutlich eine feine Wabenstruktur (Taf. 16 Fig. 9). Die Plasmaeinschlüsse sind bald mehr, bald weniger groß und reichlich gehäuft; mit den meisten Kernfarbstoffen färben sie sich intensiv, wenn auch oft abweichend vom Farbenton des Chromatins. Besonders stark färben sie sich mit Alaun-Hämatoxylin nach EHRlich.

In einer ganzen Serie von infizierten Fischen fanden wir das Cytoplasma wenig dicht, gleichmäßig in der ganzen Cyste verteilt, ohne Unterschied einer Ecto- und Entoplasmaschicht. Auch die Kerne waren hier gleichmäßig durch das ganze Plasma verteilt (Taf. 15 Fig. 3). In einer anderen Gruppe von Präparaten dagegen ließ sich sehr deutlich eine dichtere, feinwabige Ectoplasmaschicht unterscheiden, die sich auch stärker färbt, als das gröber vacuolisierte Entoplasma, und die weder Kerne noch sonstige Einschlüsse enthält. Im Entoplasma sind die Kerne dagegen in sehr großer Zahl dicht zusammengedrängt (Textfig. 8, Taf. 16 Fig. 10).

Wir konnten lange Zeit keinen Grund für den Wechsel dieser beiden Zustände entdecken, bis es uns auffiel, daß sich die Cysten ohne ectoplasmatische Schicht in jenen Fischen fanden, die im Winter getötet und konserviert worden

waren oder in Aquarien mit ständigem Durchfluß kalten Wassers gelebt

hatten. Bei Fischen dagegen, die wärmerem Wasser entnommen waren, fand sich die in Taf. 16 Fig. 10 abgebildete Form. Ob dieses Schwanken des Befundes mit Jahreszeit und Wassertemperatur wirklich zusammenhängt, vermögen wir trotz der Regelmäßigkeit, die uns bei der Untersuchung auffiel, nicht mit absoluter Sicherheit zu sagen; denn in vielen Fällen, so lange uns dieser Zusammenhang noch nicht klar geworden war, war auch nicht darauf geachtet worden. Nach den in letzter Zeit an reichlichem Materiale angefertigten Präparaten zu schließen, scheint es sich aber so zu verhalten, wie wir annehmen. Die deutliche Sonderung in Ento- und Ectoplasma jedoch tritt erst bei einer gewissen Größe der Cysten auf; bei Cysten unter etwa  $100\ \mu$  Durchmesser fanden wir sie nicht. Vermutlich hängt diese Erscheinung mit jener Form der multiplikativen Fortpflanzung zusammen, die schon PLEHN und MULSOW in ihren Grundzügen geschildert haben: die Parasiten

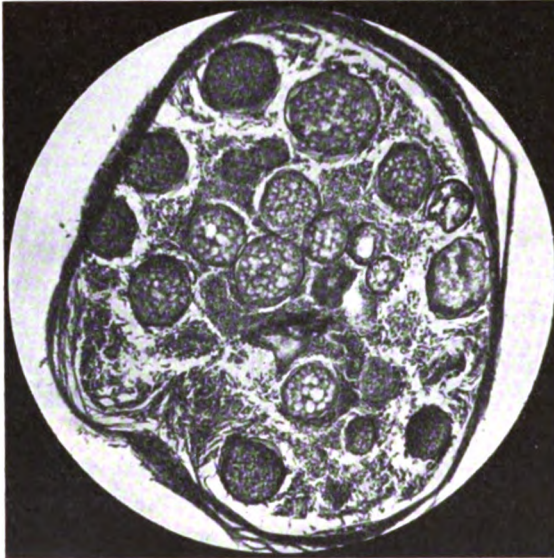


Textfig. 8.

Cyste in der Muskulatur. Kernfreier Ectoplasma-  
rand. Haemalaun. VAN GIESON. Vergr. ca. 175.

sprengen die Cystenhülle und kriechen in amöboider Form aus, um sich in eine große Anzahl von Fragmenten zu zerlegen, die sich dann, meist in nächster Nähe der verlassenen Muttercyste, aufs neue encystieren. Auf diese Weise entstehen von einer Cyste aus ganze Kolonien, die häufig durch eine vom Wirtsgewebe gelieferte fibröse Membran zu einer abgeschlossenen Einheit zusammen gehalten werden (Textfig. 9).

Wenn sich nun dieser Prozeß mehrmals in rascher Folge wiederholt, so treten an umschriebenen Stellen derartige Parasitenanhäufungen



Textfig. 9.

Schnitt durch einen aus der Muskulatur herauspräparierten Cystenhaufen. E.-H. Vergr. ca. 90.

auf, wie sie in Taf. 15 Fig. 1 dargestellt sind. Bei diesem Vorgange sind alle Übergangsstadien

zwischen reiner Amöbenform

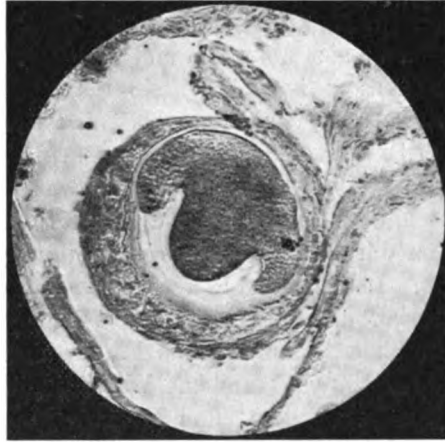
(Taf. 16 Fig. 16, 17, 19) und der von PLEHN u. MULSOW in ihren Fig. 5 u. 6 dargestellten pilzartigen Wachstumsform sehr schön wahrzunehmen.

Vermutlich richtet sich hier das Verhalten des *Ichthyophonus* ganz nach dem mehr oder weniger

großen Widerstand, den ihm das umgebende Wirtsgewebe entgegensetzt. Textfig. 10 zeigt z. B. ganz deutlich, wie der ausschlüpfende Parasit durch die fibröse Hülle gezwungen wird, die hier vorliegende Form anzunehmen. Wo dagegen kein derartiges Hindernis zu überwinden ist, scheint die Tendenz vorzuliegen, lange Sprossen nach allen Seiten hin auszusenden (Taf. 16 Fig. 18). Dies geschieht namentlich regelmäßig in flüssigen Medien, wie z. B. im Liquor cerebrospinalis; und ebenso findet sich diese Erscheinung in künstlichen Nährmedien, wie in Bouillon.

Es stellte sich nun heraus, daß dieser Vermehrungsmodus sich

fast nur bei solchem Material nachweisen ließ, das in den Sommermonaten gewonnen worden war. Allerdings finden sich die gleichen Vorgänge stets bei nicht mehr frischem Materiale. Schon verhältnismäßig kurze Zeit nach dem Tode des Wirtstieres, oft nach wenigen Stunden, haben alle Parasiten ihre Hülle verlassen und beginnen sich zu fragmentieren (Taf. 16 Fig. 19). Bei ganz frisch fixiertem Material aus kaltem Wasser dagegen konnten wir diese Erscheinung niemals wahrnehmen. Es ist also gewiß Vorsicht am Platze, will man feststellen, ob ein Massenausschlüpfen im normalen Verlauf der Entwicklung geschieht, oder ob es durch beginnende Fäulnis der Gewebe hervorgerufen wurde. An den unter normalen Verhältnissen ausschlüpfenden Parasiten läßt sich bei günstiger Konservierung immer die oben geschilderte Struktur, die kernlose dichte Ectoplasmaschicht, wahrnehmen. Wir halten also das Auftreten dieser



Textfig. 10.

*Ichthyophonus hoferi*, aus der Cyste ausschlüpfend.  
Hämalaun-Eosin. Vergr. ca. 180.

Erscheinung für einen Vorbereitungsakt für das Ausschlüpfen. Cysten also, wie sie in Textfig. 8 dargestellt sind, wären zum Ausschlüpfen reif, die in Taf. 15 Fig. 3 abgebildeten nicht. Wir glauben daher nicht irre zu gehen, wenn wir die von PLEHN und MULSOW auf ihrer Tafel, Fig. 1 u. 2 dargestellten auskriechenden Individuen als solche auffassen, die nur durch beginnende Fäulnis des Wirtsgewebes dazu veranlaßt worden sind. Unsere Fig. 17, Taf. 16, zeigt deutlich die Struktur eines im frischen Wirtsgewebe auskriechenden Exemplars.

Unter den im Hochsommer 1910 aus dem sehr warmen Teichwasser entnommenen und sofort getöteten Fischen fanden sich fast nur solche, in deren ganz frisch fixierten Organen kaum eine einzige Cyste in Ruhe geblieben war. Dieser Befund berechtigt zu der Annahme, daß eine bestimmte höhere Wassertemperatur den Inhalt aller Cysten sofort zum Auskriechen veranlaßt. Im Sommer geht also die Vermehrung der Parasiten rapide vor sich und führt zu



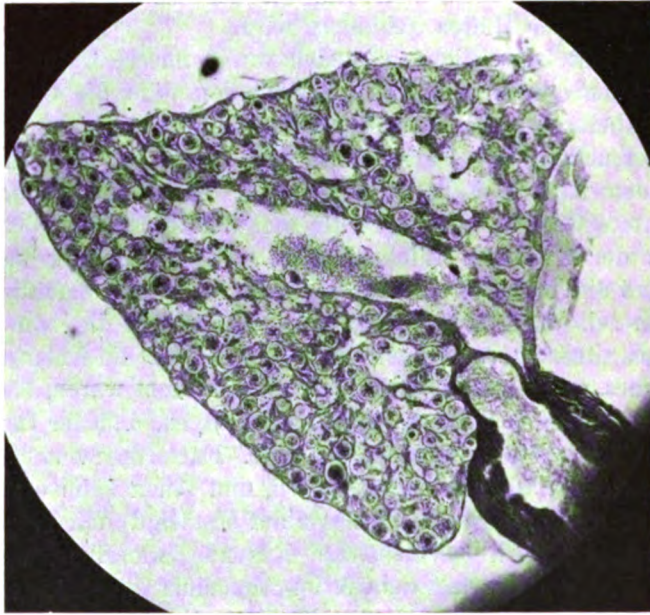
einer Überschwemmung einmal befallener Organe mit zahlreichen Individuen und zur Bildung großer Granulome; im Winter ist sie ganz oder nahezu ganz unterbrochen, da der Prozeß des „Heranreifens“ der Cysten bis zum Ausschlüpfen sehr langsam vor sich geht. Nur ganz vereinzelt findet sich im Wintermaterial die ausschöpfenden Cysten neben zahlreichen ruhenden Exemplaren.

Bei der Besprechung der Fortpflanzungserscheinungen erwähnen PLEHN und MULSOW noch ein Stadium, das sie einige Male gesehen und in Fig. 4 ihrer Tafel dargestellt haben. Der Parasit soll hier innerhalb der Cystenhülle in zahlreiche wenigkernige Teilstücke zerfallen, die sich abkugeln und mit einer festen Hülle umgeben. PLEHN und MULSOW betrachten sie als Dauerstadien, die nach dem Absterben und Verfaulen des Wirtstieres die Infektion verbreiten. Auch LAVERAN und PETTIT erwähnen derartige Bilder. Diese Stadien haben wir nicht finden können, was natürlich ihr Vorkommen nicht ausschließen und die dezidierten Angaben von PLEHN und MULSOW, die ja durch eine sehr klare Abbildung belegt sind, nicht erschüttern kann. Immerhin ist es auffallend, daß wir in unserem soviel reicheren Material, das zu allen Jahreszeiten gewonnen wurde, ein Stadium nicht finden konnten, das PLEHN und MULSOW in ihrem viel spärlicheren Material fanden. Wir mußten uns daher fragen, ob es sich bei der von PLEHN und MULSOW beschriebenen Form um eine im Entwicklungsgange des Parasiten normale Erscheinung handle. Nur ein einziges Präparat (Taf. 16 Fig. 21) findet sich unter unseren Schnittserien, das eine gewisse Ähnlichkeit mit dem erwähnten Bilde aufweist. Allerdings sind die kleinen Cysten, die hier in einer gemeinsamen Hülle zusammengehäuft liegen, viel weniger zahlreich. Das Zustandekommen dieses Bildes ließe sich vielleicht auf folgende Weise erklären: der Parasit war im Begriff auszuschlüpfen; doch stellte sich dem, etwa in der Beschaffenheit der Hülle, ein unüberwindliches Hindernis entgegen. Hierauf begann der Zerfall, und die auf einen engen Raum zusammengepferchten Teilstücke encystierten sich nun, wie es ja auch im normalen Verlaufe des Entwicklungsganges geschieht. Wir haben mehrfach Andeutungen eines solchen Prozesses gesehen. Meist waren drei oder vier Teilstücke in einer Cystenhülle so aneinander geschmiegt, daß sie sich an den Berührungsfächen gegenseitig abplatteten, ähnlich wie etwa Ichthyophthirien nach den ersten Teilungen in der Cyste. Dieselbe Erscheinung tritt übrigens auch dann ein, wenn es dem *Ichthyophonus* zwar gelingt, die Cystenhülle zu sprengen, nicht aber die fibröse Kapsel. Wir vermuten, daß es sich bei den von PLEHN und MULSOW geschilderten

Individuen um ähnliche unter abnormalen Umständen vor sich gegangene vegetative Prozesse handelt. Namentlich dann, wenn solches Gewebe vorliegt, das bereits in Zersetzung begriffen ist, tritt diese Erscheinung auf. Vielleicht üben hier die Zersetzungsprodukte einen schädigenden Einfluß auf den Parasiten aus, so daß er dadurch am Durchbrechen der Hüllen gehindert wird.

Aus leicht begreiflichen Gründen waren unsere Untersuchungen hauptsächlich darauf gerichtet, festzustellen, wie die Übertragung der Krankheit, resp. des Parasiten auf neue Wirtstiere vor sich geht. Die Untersuchung der erkrankten Fische zeigte uns in erster Linie, daß in den meisten Fällen Herz, Leber, Niere und andere stark durchblutete Organe, wie z. B. die sog. Chorioaldrüse des Auges, der Sitz der stärksten Infektion sind. Die Vermutung lag daher nahe, daß die Blutbahn ein Hauptfaktor bei der Übertragung des Parasiten sei. Eine weitere Frage war natürlich die, von wo aus der Schmarotzer in den Blutstrom gelange. Daß die Anhangsdrüsen des Darmes meist ganz besonders stark verseucht waren, mußte uns naturgemäß auf die weitere Vermutung bringen, daß der Darmkanal die hauptsächlichste Vermittlerrolle spiele. Fütterungsversuche waren daher das erste, was wir unternahmen, und schon beim ersten Versuche fanden wir unsere Annahme vollauf bestätigt. Wir verwendeten hierzu hauptsächlich einsömmerige Regenbogenforellen, weil diese leicht zu beschaffen und zudem im Aquarium am leichtesten zur Aufnahme des Futters zu bewegen sind. Es wurde zunächst ein Dutzend solcher Fischchen mit zerhackten Organen eines stark infizierten Bachsaiblings gefüttert. Sie nahmen das Futter gierig auf, ohne in der nächsten Zeit irgendwelche Symptome einer Erkrankung zu zeigen. Erst nach etwa 14 Tagen begannen einzelne von ihnen abzusterben; bei der Sektion zeigten sich geradezu ungeheure Anhäufungen kleiner Cysten in Herz und Leber. So entstammt das in Textfig. 11 dargestellte Herz dem ersten infolge Infektion durch Fütterung gestorbenen Versuchstiere. Sehr bald darauf starb ein Fischchen unter den deutlichsten Anzeichen von Erstickung: in diesem Falle fanden wir tatsächlich die Kiemen sehr reichlich besetzt mit Cysten. Die Infektionsversuche durch Verfütterung infizierten Materials, mit denen wir 1910 begannen, waren also vollständig gelungen. Es war nun festzustellen, welche Stadien der parasitäre Organismus bis zur Encystierung durchläuft, resp. wie, in welcher Form und auf welchem Wege er nach der Aufnahme mit dem Futter in das neue Wirtstier eindringt, um sich dort als pathogener Parasit festzusetzen. Zu diesem Zwecke wurden größere

Portionen von Jährlingen mit infektionstüchtigem Materiale gefüttert und die einzelnen Fischchen in ganz bestimmten Zwischenräumen getötet und sezirt. Diese Untersuchungen ergaben nun folgendes Resultat:



Textfig. 11.

Herz eines Regenbogenforellen-Jährlings, am 14. Tage nach der Fütterung gestorben.  
Hämatoxylin-Eosin. Vergr. ca. 50.

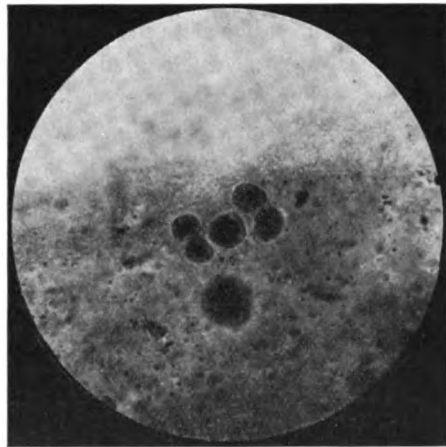
Weniger als 24 Stunden nach der Fütterung fand sich im Pylorusteil des Magens frisch geschlachteter Fische bei zahlreichen Cysten der Inhalt im Ausschlüpfen begriffen (Taf. 17 Fig. 23, 24). Ferner fanden sich leere Cystenhüllen (Textfig. 12) und im Schleim des Magens verteilt ungeheure Mengen kleiner, mehrkerniger Kügelchen von ca. 10–20  $\mu$  Durchmesser (Textfig. 13). Am lebenden Material ließ sich die Entstehung dieses Stadiums gut verfolgen; der Prozeß entspricht im wesentlichen ganz der Schilderung von PLEHN und MULSOW. Der einzige Unterschied besteht darin, daß den kugligen Fragmenten des Parasiten die feste durchsichtige Hülle zu fehlen scheint, die sich wohl nur im künstlichen Nährmedium bildet. Auch auf Schnittpräparaten durch den mit infiziertem Futter noch gefüllten Magen läßt sich der Prozeß sehr schön verfolgen. Taf. 17 Fig. 25 zeigt den Mageninhalt vollständig durchsetzt

von diesen vielkernigen Gebilden. In einzelnen von ihnen sind sämtliche Kerne in Teilung begriffen (Taf. 17 Fig. 26). Es ist ganz auffallend, wie mitten unter einer ganzen Anzahl derartiger, einander völlig ähnlicher Gebilde, die wohl sicher von demselben Mutterindividuum abstammen und kurz vorher noch eine einheitliche Kugel bildeten — wie unter ihnen plötzlich eins zur gleichzeitigen Teilung aller Kerne schreitet, während alle anderen sich indifferent verhalten. Auch müssen ja die äußeren Bedingungen, unter denen sich diese Kügelchen befinden, für sie alle, oder doch wenigstens für die unmittelbar nebeneinander liegenden, ganz identisch sein. Ein Unterschied scheint nur in ihrer relativen Größe, also im Verhältnis der



Textfig. 12.

Textfig. 12. Leere Cystenhüllen im Ausstrich aus dem Magenschleim, 24 Stunden nach Fütterung. Hämatoxylin-Eosin. Vergr. ca. 200.



Textfig. 13.

Textfig. 13. Ausstrich aus dem Magenschleim, 24 Stunden nach Fütterung. Hämatoxylin-Eosin. Vergr. ca. 300.

Masse zur Oberfläche, zu bestehen. Es erscheint uns daher die Annahme berechtigt, daß Differenzen in der Oberflächenspannung die Zeit des Eintrittes der Kernteilungen verschieden beeinflussen. Der Kernteilungsprozeß selbst verläuft offenbar sehr rasch; man beobachtet ihn nur selten, selbst unter sehr vielen Individuen. Die Kernvermehrung muß jedoch sehr lebhaft sein, da das Endresultat, das die Teilung eines einzigen Cysteninhalts liefert, eine Summe von wohl über hundert Tochterindividuen ist, die zusammen eine sehr viel größere Plasmamasse repräsentieren, als der Inhalt der Muttercyste ausmachen konnte. Jedenfalls wachsen die Tochter-

individuen, in denen die Kerne mindestens ebenso dicht liegen wie in der Muttercyste, sehr rasch unter Flüssigkeitsaufnahme. Ein genaues Studium des Kernteilungsvorganges war uns bei der außerordentlichen Kleinheit der Kerne und der relativen Seltenheit der Teilungsfiguren nicht möglich. Es scheint sich um eine Art primitiver Mitose zu handeln.

Auffallend ist, daß es weder uns, noch, wie es scheint, PLEHN und MULSOW oder LAVERAN und PETTIT gelungen ist, deutliche Kernteilungen in den ruhenden oder heranwachsenden Cysten zu sehen. Bei dem außerordentlich raschen Wachstum der Cysten, die bis zum Eintritt des von uns als „Reife“ bezeichneten Stadiums immer etwa gleich viel Kerne in einer Raumeinheit, nach dem Eintritt dieses Stadiums aber sehr große Mengen dicht aneinander gedrängter Kerne zeigen, muß auch hier eine recht lebhaftere Kernvermehrung angenommen werden, deren Stadien nur wegen des ungemein raschen Ablaufes der Vorgänge schwer zu finden sein dürften. Andeutungen des Kernteilungsvorganges, nämlich länglich ausgezogene Kerne, oder zwei ganz dicht nebeneinander liegende (Tochter-?) Kerne haben wir öfters gesehen.

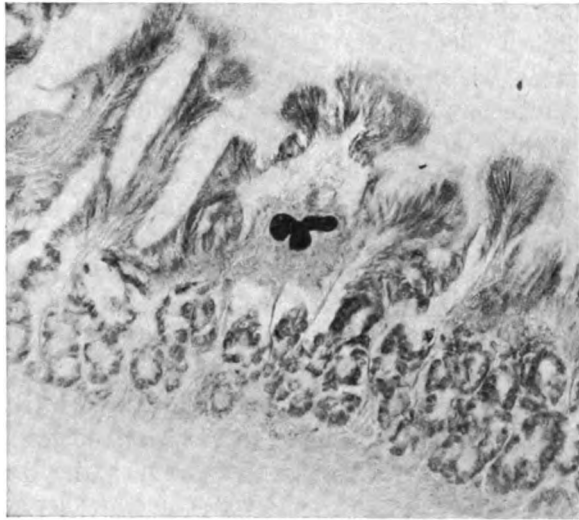
Während die Fragmente des Cysteninhaltes anfangs regellos durch den ganzen Inhalt des Magens verteilt sind, sieht man später die fertigen Kügelchen mehr und mehr der Magenschleimhaut des Pylorusteiles sich nähern; oft sitzen sie in dichten Reihen der Magenwand an. Ungefähr 24 Stunden nach der Fütterung beginnen sie in die Magenschleimhaut einzudringen, besonders zahlreich in der Gegend des Pförtners, wo sich die Schleimhaut zu hohen Falten erhebt. Im Magen von Fischen, die 24—72 Stunden nach der Fütterung getötet wurden, kann man oft große Mengen amöboider Körper von dem ungefähren Volumen der erwähnten Kügelchen auf der Wanderung durch die Mucosa und die Submucosa der Magenwand antreffen. Besonders hier leistet die Schnittfärbung mit verdünnter GIEMSA-Lösung ausgezeichnete Dienste. Die einwandernden Parasiten heben sich in solchen Präparaten leuchtend blau von ihrer Umgebung ab (Textfig. 14).

Es ist ganz offenbar, daß dieses amöboide Stadium vortrefflich geeignet ist, die Gewebe des Wirtes zu durchdringen, am leichtesten natürlich in der Richtung des geringsten Widerstandes, in der Muskultur z. B. im Perimysium. Wo aber der Parasit aus einem wenig Widerstand bietenden Gewebe, wie die Schleimhaut des Darmtraktes, in ein festeres, wie die Muskulatur desselben, übertreten will, sieht man den bisher amöboiden Körper zunächst in einem

kugligen Gebilde zusammenfließen (Taf. 17 Fig. 31). Ist es ihm dann gelungen, den Widerstand, der seiner Wanderung entgegentrat, zu überwinden, so fließt er wieder wie eine langgestreckte Amöbe, etwa vom *Limax*-Typus, weiter. Daß möglicherweise auch nicht rein mechanische Einwirkungen von seiten des Parasiten auf das Wirtsgewebe bei dieser Wanderung zur Geltung kommen, zeigt Taf. 17 Fig. 27; denn um den in die Magenschleimhaut eindringenden Parasiten sind hier die Epithelzellen spurlos verschwunden.

Das Endziel der Wanderung ist ohne Zweifel ein Blut- oder Lymphgefäß der Darmwand. Es ist uns allerdings nicht gelungen, den Parasiten im Momente des Eindringens in das Gefäßsystem auf einem

Schnitte zu beobachten. Dazu wäre aber auch unseres Erachtens besonderes Glück notwendig gewesen. Bevor jedoch die Blutbahn den Weitertransport des Parasiten übernimmt, muß dieser noch in viele, erheblich kleinere Frag-



Textfig. 14. Amöboides Stadium in der Magenwand.  
GIEMSA. Vergr. ca. 220.

mente zerfallen, wodurch er eben befähigt wird, ohne Hindernis durch die kleinsten Gefäße getragen zu werden. Den Beginn dieser neuen Fragmentation zeigt Taf. 17 Fig. 32.

Ein anderer Verbreitungsweg des Parasiten ist nicht wohl anzunehmen, zumal da wir später tatsächlich die kleinsten, 5—10  $\mu$  großen Stadien reichlich im kreisenden Blute finden. Die Zeit, die von der Fütterung der Fische mit infektionstüchtigem Material bis zum Auftreten dieser Gebilde im Blute verstreicht, wechselt stark; man kann sie mit 36—72 Stunden angeben (bei einer Temperatur von ca. 10° C, wie sie in unseren, mit Wiener Leitungswasser gespeisten Aquarien bei nicht zu starkem Durchfluß herrscht). Im

Blutausstich von frisch getöteten Fischen fanden wir zu dieser Zeit größere Mengen rundlicher Körperchen, Leucocyten sehr ähnlich, die wir als das im Blut kreisende Stadium des *Ichthyophonus* anzusprechen geneigt waren. Zählungen der leucocytenartigen Zellen in den Blutausstichen zeigen, daß 36—72 Stunden nach der Fütterung mit infiziertem Material die Zahl dieser Zellen erheblich anzusteigen pflegt, um dann rasch wieder auf das normale Maß zu fallen. Klare und sichere Resultate gaben dann Schnitte durch die Herzen von um die kritische Zeit getöteten Versuchsfischen. In den nach GIEMSA gefärbten Schnittpräparaten (Taf. 17 Fig. 34, 36) fanden wir jene kleinen runden Körperchen wieder, zum Teil zwischen den Muskelfasern liegend, zum Teil, und das war uns maßgebend, mitten zwischen den roten Blutkörperchen. Mit absoluter Sicherheit konnten wir diese Gebilde als die gesuchten Stadien des Parasiten ansprechen, als es uns gelang, in ihnen die bläschenförmigen, mit einem punktartigen Nucleolus versehenen Kerne nachzuweisen (Taf. 17 Fig. 35). Um derartige Bilder zu erhalten, ist es natürlich der einfachste Weg, die Versuchsfische oftmals in kurzen Zwischenräumen mit infiziertem Material zu füttern.

Die frisch ins Gewebe eingewanderten, 6—20  $\mu$  großen Stadien färben sich nach GIEMSA noch ganz intensiv dunkelblau; sie enthalten etwa 5—12 Kerne, die meist dicht beisammen liegen und oft sogar zu einem chromidienartigen Klumpen zusammen gebacken zu sein scheinen. Die Cystenhülle bildet sich schon sehr bald aus. Taf. 17 Fig. 38 zeigt ein derartiges frisch eingewandertes Individuum, in seinem größten Durchmesser getroffen, im Herzen zwischen zwei großen Cysten liegend, die von einem früheren Fütterungsversuch herrühren. Sein Durchmesser beträgt 13  $\mu$ , der einer der älteren Cysten 164  $\mu$ . Taf. 17 Fig. 39 demonstriert in der Herzvorkammer eine Ansammlung zahlreicher junger Parasiten mit sehr deutlicher chromidienartiger Anordnung der Kernsubstanz. Man kann unter diesen Cysten kleinere, mit einem Durchmesser von 15—18  $\mu$  unterscheiden, mit stark verklumptem Chromatin, während eine andere Gruppe von drei etwas größeren Cysten (20—24  $\mu$ ) bereits eine Sonderung der färbbaren Substanz in einzelne schmale Stränge erkennen läßt; man hat den Eindruck, daß sich diese Chromatin-komplexe bald zu Kernen abrunden würden. Nach unseren Aufzeichnungen war der Fisch, vom dem dieses Herz stammt, seit 6 Tagen täglich mit infiziertem Material gefüttert worden. Es ist wohl anzunehmen, daß die hier abgebildeten Cysten teilweise vom ersten, teilweise vom zweiten Fütterungstage herkommen. PLEHN

und MULSOW sprechen die Vermutung aus, daß im Entwicklungscyclus des *Ichthyophonus*, nach Analogie der Verhältnisse bei anderen Chytridinen, Schwärmsporen vorkommen werden. Sie glauben jedoch das Auftreten derartiger Stadien nicht im Körper des Wirtes erwarten zu sollen, sondern im freien Wasser, in das der Parasit durch Verfaulen des Wirtes oder mit dem Kote gelangt wären. Die erste Möglichkeit haben wir geprüft und gefunden, daß die Parasiten, nach der oben geschilderten, anfänglichen Vermehrung im faulenden Wirtsgewebe, im weiteren Verlaufe regelmäßig absterben. Auf den zweiten möglichen Modus des Freiwerdens des Parasiten, durch Entleerung mit dem Kote, wird weiter unten noch zurückzukommen sein; auch auf diesem Wege findet nach unseren Erfahrungen, wenigstens im Süßwasser, eine Neuinfektion von Fischen nicht statt. So plausibel also die Vermutung von PLEHN und MULSOW auf den ersten Blick erscheint, so glauben wir sie doch ablehnen zu müssen. Andererseits scheint auch uns das Auftreten von Schwärmern und deren Copulation an irgendeiner Stelle des Zeugungskreises sehr wahrscheinlich. Die eigenartigen Kernveränderungen, die die jungen Stadien nach ihrer Festsetzung im Wirtsgewebe durchmachen — Verklumpung der Kerne, Auflösung in chromidienartige Stränge, Ausbildung neuer Kerne — sprechen vielleicht dafür, daß die geschlechtlichen Vorgänge in dieser Phase der Entwicklung stattfinden. Jedoch erscheint uns bei dem Mangel exakter Beobachtungen über diesen Gegenstand die nähere Präzisierung diesbezüglicher Vermutungen müßig.

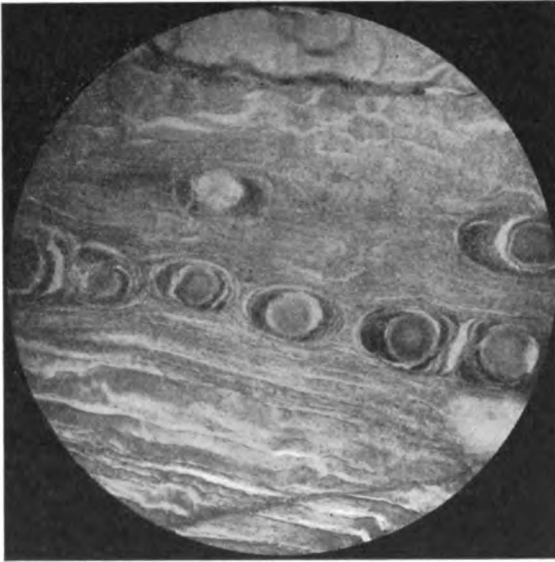
In Nativpräparaten aus dem Blute fanden wir zur kritischen Zeit häufig amöboide Körper von 6—8  $\mu$  Durchmesser, darunter lebhaft bewegliche, auch mehrkernige Formen; es konnte aber in keinem Falle mit Sicherheit ausgeschlossen werden, daß es sich um Elemente des Fischblutes handle. Auch unsere Versuche, durch die Injektion derartigen Blutes in gesunde Fische die Krankheit zu übertragen, blieben resultatlos, während, wie erwähnt, LAVERAN und PERRIT auf diesem Wege positive Erfolge erzielten.

Schon wenige Tage nach der Fütterung sind die im Gewebe festsitzenden Parasiten stark herangewachsen, so daß man sie bei starkem Befall ohne Mühe in Zupfpräparaten finden kann. Es scheint übrigens, daß sie sich auch während der Wanderung durch das Gewebe noch weiter vermehren können. So zeigt Taf. 17 Fig. 37 ein Muskelzupfpräparat von einem frisch infizierten Fisch, eine merkwürdige reihenförmige Anordnung der jungen Parasiten, die auch in späteren Stadien wiederkehrt (Textfig. 15). Es ist jedoch auch



möglich, daß diese Cystenkette den Verlauf eines Blutgefäßes bezeichnet, das einer ganzen Anzahl junger Stadien als Bahn für ihre Wanderung gedient hat.

Binnen 14 Tagen (bei 10° C) sind die jungen Parasiten zu Cysten von ca. 100  $\mu$  Durchmesser herangewachsen und können nun schon mit sicherem Infektionserfolg verfüttert werden, womit der Cyclus geschlossen erscheint. Übrigens ist in den meisten Fällen die Infektion sehr leicht zu erreichen. Es ist ziemlich gleichgültig, ob die



Textfig. 15.

Cysten in der Muskulatur, reihenförmige Anordnung in der Richtung der Fasern. Hämalaun. Vergr. ca. 40.

Cysten jung oder alt, das zu verfütternde Material frisch oder schon in Zersetzung begriffen ist, selbst mit Stücken, in denen infolgeder Zersetzungsprozesse schon alle Parasiten aus der Cyste ausgeschlüpft sind und sich sogar schon in kleine Fragmente geteilt haben, läßt sich meist noch mit Erfolg infizieren.

Ein Jährling, der ein derartiges Stück Leber gefressen hatte, wurde nach 4—5 Stunden lebend zu einer größeren Regenbogenforelle gesetzt, die ihn nach kurzer Zeit fraß und sich auf diese Weise prompt infizierte, was die Infektionstüchtigkeit des an den ersten Fisch verrütterten Materials ad oculos demonstrierte.

Merkwürdigerweise aber versagte einmal diese Infektionsmethode leider völlig, aus unbekanntem Ursachen. Dadurch wurde unser Studium der Krankheit im Frühjahr 1913 plötzlich unterbrochen, als wir gerade eine große Anzahl von Jährlingen mit allem uns noch zur Verfügung stehenden lebenden Material, einer recht bedeutenden Menge, in mehreren Etappen fütterten. Zu unserer unangenehmen

Überraschung war die Infektion bei keinem einzigen der 30 gefütterten Fische erfolgreich ausgefallen. Wir hatten beabsichtigt, Kulturen des Pilzes in künstlichen Nährmedien, nach dem Vorgange von PLEHN und MULSOW, in größerem Maßstabe anzulegen, um u. a. die Möglichkeit einer Infektion mit solchem Material zu prüfen.

Denn obwohl unsere Übertragungsversuche einen vollkommen geschlossenen Cyclus ergeben hatten, schien es uns doch nicht recht wahrscheinlich, daß der von uns beobachtete Infektionsmodus der einzig mögliche sein sollte. Es ist ja ganz sicher, daß ein Salmonide, der einen anderen, kranken, verschlingt, sich auf diese Weise infizieren kann. Aber die Krankheit ist bisher nur in Zuchtanstalten beobachtet worden, wo man Fische von so verschiedener Größe, daß einer den anderen fressen kann, nicht in einem Teiche zu halten pflegt. Nehmen wir aber auch an, die Krankheit sei in die Zuchtanstalten aus Wildwässern importiert und in diesen nur bisher nicht bemerkt worden. Wie sollen wir uns dann den Vorgang vorstellen, wenn wir voraussetzen, daß die Krankheit nur durch Verschlingen parasitenhaltigen Edelfischfleisches erworben werden kann? Sehen wir ganz von der Frage ab, woher denn die ersten Infektionsträger in einem bestimmten Gewässer stammen sollen — da die Edelfische nicht die Gewohnheit haben, zu mehreren über ein größeres, etwa durch Krankheit geschwächtes Exemplar herzufallen und es zu zerreißen, könnte die Krankheit auf diesem Wege stets nur von einem Fisch auf einen anderen, und zwar von einem kleineren auf einen größeren, übertragen werden. Es ist leicht einzusehen, daß mit dem Gefressenwerden und sonstigen Absterben und Verschwinden der kleineren kranken Exemplare der Zeitpunkt rasch näher rücken müßte, in dem schließlich nur noch große Infektionsträger übrig bleiben, die von keinem anderen Edelfisch mehr überwältigt werden können. Mit dem Tode dieser Exemplare aber müßte auch die Krankheit selbst verschwinden. Kurz, nur auf dem von uns festgestellten Wege allein kann die Erhaltung der Art *Ichthyophonus hoferi* wohl nicht stattfinden. Im übrigen hat es sich bei unseren Versuchen gezeigt, daß im Aquarium die Krankheit gleich von Anfang an mit solcher Intensität einsetzte, wie sie in Teichen erfahrungsgemäß nicht einzutreten pflegt. Außerdem deutete der pathologisch-histologische Befund der Organe infizierter, getöteter oder eingegangener Teichfische stets auf Gewebeveränderungen, die klar zeigten, daß die Tiere lange Zeit, jedenfalls viel länger als die im Aquarium gehaltenen, den Parasiten beherbergt hatten, ohne daß ein baldiger Tod die Folge der Infektion gewesen wäre. Es scheint,

daß die wirksame Dosis des Parasiten, die bei unseren Versuchsfischen nach wenigen Wochen den Tod herbeiführte, in größeren Teichen auf so viele Teilgaben beschränkt ist, daß nicht eine Überschwemmung lebenswichtiger Organe, wie sie etwa Textfig. 11 veranschaulicht, sondern ihre allmähliche Anreicherung mit Parasiten den letalen Ausgang bewirkt. Dazu kommt, daß die multiplikative Vermehrung des *Ichthyophonus* nach unseren Erfahrungen in der kalten Jahreszeit überhaupt sistiert, während sie in den Sommermonaten allerdings in geometrischer Progression fortschreitet. Bis zu dem lebensgefährlichen Stadium, das bei unseren Versuchen schon nach wenigen Wochen erreicht war, kommt es unter natürlicheren Verhältnissen offenbar meistens erst nach Monaten oder selbst Jahren.

Das heißt also, daß die Infektion für gewöhnlich wohl durch die Aufnahme von nur einer oder wenigen Cysten erfolgt. Wir sind deshalb darangegangen, die Nahrung zu prüfen, die den Salmoniden in dem Teiche, in dem sie erkrankten, verabreicht wurde. Gewöhnlich wurden die Teichfische mit den Eingeweiden von Fischen aus dem Traunsee gefüttert. Die Hauptmasse zu diesem Futter lieferten die Coregonen. Ob diese für den *Ichthyophonus* empfänglich sind und ob durch sie der Erreger in den Teich gelangte, wissen wir nicht. Wir wissen nur, daß bisher ein Renkensterben im See nicht beobachtet worden ist. Das will allerdings wenig sagen, da ein taumelkranker Coregone jedenfalls in kürzester Frist einem Raubfisch zum Opfer fallen müßte. Versuche mit Coregonen konnten nicht angestellt werden.

Nun wurden an die Teichfische auch kleine Weißfische, namentlich Pfrillen, lebend verfüttert. Es schien uns nun die nächstliegende Vermutung zu sein, daß etwa Edelfische, die in der freien Natur an der Krankheit schwer leiden oder eingegangen sind, von anderen Fischen zerrissen werden, die sich auf diese Weise infizieren und so gewissermaßen die Zwischenwirte abgeben würden. Von den Pfrillen z. B. ist diese Gewohnheit bekannt. Wir mußten also prüfen, ob irgendwelche derartige Fische für den Parasiten empfänglich sind. Aber alle unsere Versuche, Pfrillen (*Phoxinus laevis* AGASS.), Aitel (*Squalius cephalus* L.), Gründlinge (*Gobio fluviatilis* CVV.), Koppen (*Cottus gobio* L.) und Barsche (*Perca fluviatilis* L.) mit großen Mengen zerhackten parasitenhaltigen Materials zu füttern, führten zu keinem positiven Resultat. Wir haben, außer den Salmoniden, speziell *Trutta fario* L., *Tr. iridea* GIBB., *Salmo salvelinus* L. und *S. fontinalis* MITCHILL, keinen Fisch gefunden, der für die Krankheit empfänglich wäre.

Wir begannen nun unter den Wirbellosen, die als Nährtiere der Salmoniden in Betracht kommen, nach Zwischenwirten zu suchen. Ein Vorversuch, bei dem ein Glas mit Gammariden, Asellus und verschiedenen Insektenlarven und Schnecken mit klein gehacktem cystenhaltigen Fischfleisch beschickt wurde und diese Tiere dann sukzessive an Regenbogen- und Bachsaiblingsjährlinge verfüttert wurden, ergab kein Resultat. Systematische Versuche in dieser Richtung anzustellen, verhinderte uns das oben erwähnte plötzliche Versagen eines Infektionsversuches, nachdem sich die Krankheit über 2 Jahre lang von spärlichem Ausgangsmaterial her durch beständiges Verfüttern an ca. 500 Versuchsfische in unseren Aquarien hatte erhalten lassen.

Die Vermutung von LAVERAN und PETTIT, daß der Parasit durch mit den Fäces ausgeschiedene kleine Stadien übertragen werde, können wir nicht bestätigen. Wir haben mehrfach infizierte und gesunde Fische im gleichen Aquarium, nur durch ein Gitter getrennt, mehrere Wochen lang zusammengehalten, ohne daß eine Übertragung eingetreten wäre. Auch haben wir ein Aquarium ohne Durchfluß (nur mit Durchlüftung), das mehrere Monate lang kranken Regenbogenforellen in allen Stadien zum Aufenthalte gedient hatte, dann ohne vorherige Säuberung mit gesunden Jährlingen besetzt und dafür gesorgt, daß diese ihr Futter vom Boden aufnehmen mußten — mit dem gleichen negativen Erfolg. Die von LAVERAN und PETTIT erwähnten Körperchen fanden wir nur in seltenen Fällen in den Fäces, resp. im Darminhalte von Fischen, die seit längerer Zeit taumelkrank waren, wohl aber immer reichlich kurz nach der Fütterung mit infiziertem Material im Magen (Textfig. 13) und, wenn auch weniger reichlich, auch im Dünndarm. Da wir die Einwanderung des Parasiten nur durch die Magenwand, nicht aber durch die Wand des Dünndarms beobachten konnten, so glauben wir, daß die einmal aus dem Magen in den Darm gelangten Körperchen keine Infektion mehr hervorrufen, sondern entweder verdaut oder mit den Fäces ausgeschieden werden. Wir glauben nicht fehlzugehen, wenn wir die von LAVERAN und PETTIT erwähnten Körperchen mit den von uns beschriebenen und abgebildeten für identisch halten. Wären nun die von diesen Forschern studierten Fische in der Zuchtanstalt immer wieder mit infiziertem Material gefüttert worden, so wäre natürlich das beständige Auftreten der in Rede stehenden Stadien im Darminhalt ohne weiteres erklärlich.

Nicht unerwähnt bleibe schließlich ein Weg, auf dem unter Umständen eine Übertragung von Fisch zu Fisch stattfinden könnte,

ohne daß der eine den anderen fressen müßte. Wenn man Schnitte durch den Darm stark infizierter Fische betrachtet, so sieht man oft zahlreiche Cysten dicht am Darmlumen in der Schleimhaut sitzen (Taf. 16 Fig. 12). Die Möglichkeit, daß eine solche Cyste mit dem Zottenepithel in das Darmlumen abgestoßen wird und so in den Kot gelangt und ausgeschieden wird, ist nicht völlig von der Hand zu weisen. Nimmt ein Fisch dann zufällig mit der Nahrung diese Cyste auf, so kann selbstverständlich eine Infektion erfolgen. Wir haben diesen Vorgang zwar nicht beobachtet und kennen keinen Fall, in dem eine Cyste auf diese Weise in das Darmlumen geraten wäre; wir haben aber mehrfach Fälle beobachtet, die dem von uns hier konstatierten Vorgange in gewissem Sinne analog sind und die Mutmaßung wahrscheinlicher machen können. Wir fanden nämlich öfters ganze Cysten im Lumen von Blutgefäßen, wo sie offenbar vom Blutstrom mitgeführt werden und so die Infektion auf bisher nicht angegriffene Körperstellen übertragen mögen. Der Vorgang wird sich wohl so abspielen, daß der junge Parasit sich zufällig in unmittelbarer Nähe eines größeren Blutgefäßes festgesetzt hat und nun beim raschen Wachstum die Gefäßwand zuerst einbuchtet und schließlich zersprengt, worauf er leicht vom umgebenden Wirtsgewebe, das sich in entzündlichem Wachstum befindet, in das Lumen gedrängt werden kann. Taf. 16 Fig. 14 zeigt in einem Schnitt durch eine sehr stark infizierte Leber ein erheblich erweitertes Blutgefäß, in dessen Lumen eine ganze Anzahl ziemlich herangewachsener Cysten liegen. Der Einbruch der Cysten ins Lumen dürfte wohl an dieser Stelle oder in ihrer nächsten Nähe erfolgt sein. Taf. 16 Fig. 13 zeigt dagegen eine Cyste im Bulbus arteriosus, die wohl schon einen mehr oder weniger langen Weg mit dem Blutstrom zurückgelegt haben mag.

Daß derartige Einbrüche von Cysten in das Lumen von Hohlorganen nichts sehr seltenes sind, beweist auch die Tatsache, daß wir auf Schnitten durch einen stark infizierten Hoden die Cysten massenhaft im Vas deferens zwischen den Spermamassen fanden; sie dürften wohl auf analoge Weise, durch Zerreißen der Wandung eines Vas efferens, dahin geraten sein. In diesem Falle ist auch die Möglichkeit gegeben, daß die Cysten mit dem Sperma direkt ins freie Wasser gelangen. Diese Analogien scheinen uns darauf hinzuweisen, daß der von uns oben geschilderte Weg gelegentlicher Verbreitung der Infektion immerhin nicht ganz aus dem Auge zu lassen ist. Ob freilich dieser Fall in Wirklichkeit häufig genug eintreten kann, um praktische Bedeutung zu erlangen, erscheint uns zweifelhaft.

Noch immer scheint uns eine Lücke im Stande unserer Kenntnisse über den *Ichthyophonus hoferi* zu bestehen, die erst ausgefüllt werden müßte, damit wir das Auftreten und die Verbreitung der Taumelkrankheit in Fischzuchtanstalten verstehen könnten.

Diese Lücke auszufüllen scheint nun eine Mitteilung von WILLIAMSON in den Berichten des marinen Laboratoriums zu Aberdeen, referiert von PLEHN in der „Allg. Fischerei-Ztg.“ 1913 p. 323 f. WILLIAMSON fand in verschiedenen Organen des Schellfisches, namentlich in Leber, Niere und Muskulatur kleine weißliche Cysten von 1—2 mm Durchmesser. Er kennt offenbar die Taumelkrankheit nicht und schwankt, ob der Schmarotzer den Sporozoen oder den Würmern einzureihen sei.

Nach PLEHN's und MULSOW's und nach unserem Urteil lassen jedoch seine Abbildungen keinen Zweifel, daß es sich um den *Ichthyophonus hoferi* oder einen sehr nahe verwandten Organismus handelt. Diese Feststellung wirft sofort ein ganz neues Licht auf unser Problem. Das bisher unverständliche plötzliche Auftreten der Taumelkrankheit in Salmonideteichen erklärt sich ohne weiteres, wenn man annehmen kann, daß sie ausschließlich durch die Verfütterung infizierten Seefischfleisches eingeschleppt wird. Unsere Nachforschungen ergaben nun das verblüffende Resultat, daß in dem Teiche von Traunkirchen, der uns das Ausgangsmaterial zu unseren Untersuchungen lieferte, ein einziges Mal, und zwar Ende September 1909, einige Tage lang frisches Fleisch von Nordseefischen verfüttert worden ist! Im Juni 1910 ging dann in diesem Teiche der erste Fisch ein, an dessen Herz die oben beschriebenen Veränderungen konstatiert wurden. Die Vermutung, daß mit dieser Fütterung der Infektionskeim in den Teich gelangte, liegt also außerordentlich nahe. Wir haben uns daraufhin an die früheren Bearbeiter des *Ichthyophonus* gewandt und angefragt, ob sich etwa für die Teiche, die ihnen ihr Material geliefert haben, gleichfalls eine Fütterung mit Seefischfleisch nachweisen lasse. Herr Prof. Dr. PETTIT vom Institut Pasteur hat uns in liebenswürdigster Weise mitgeteilt, daß in jener Fischzuchtanstalt in Frankreich, aus der das von ihm gemeinsam mit LAVERAN bearbeitete Material stammte, Seefischfleisch von Zeit zu Zeit verfüttert werde. Von der kgl. bayr. biolog. Versuchsstation in München erhielten wir die Auskunft, daß in einer der beiden Anstalten, aus denen das von PLEHN und MULSOW untersuchte Material stammte, Fütterung mit Seefischfleisch vorgekommen sei, während sie für die andere nicht nachgewiesen werden könne.

Es sprechen daher wohl die meisten Argumente für die Richtigkeit

unserer Vermutung, daß die Taumelkrankheit in unsere Salmoniden-teiche ausschließlich mit dem Fleische von Seefischen eingeschleppt wird, und daß wenigstens für die Süßwasserfische ein anderer Weg der Infektion mit *Ichthyophonus hoferi*, als die Verfütterung cystenhaltigen Fischfleisches, normalerweise nicht existiert. Es wäre von hohem Interesse, nun den Entwicklungsgang des Parasiten in seinem marinen Wirtstier, offenbar dem ursprünglichen, zu prüfen. Zugleich müßte auch der einzige Verwandte des Schellfisches im Süßwasser, die Rutte, *Lota vulgaris* CUV. u. VAL. daraufhin untersucht werden, ob sie vielleicht für die Taumelkrankheit empfänglich ist. Uns war es leider nicht möglich, diesen Versuch zu machen. Wenn unsere Vermutung richtig ist, und die eigentlichen Wirtstiere des *Ichthyophonus* die Gadiden sind, so wäre es immerhin möglich, daß auch die Rutte sich hierin so verhält, wie ihre marinen Verwandten. Wenn also, wie im zweiten Falle der Münchener Forscher, Taumelkrankheit auftritt, ohne daß Fütterung mit Seefischfleisch nachgewiesen werden kann, während jedoch — und dies ist zu beachten — Fütterung mit gehacktem Fleische von Süßwasserfischen zugegeben wird, so liegt der Gedanke nahe, es möchte sich vielleicht unter diese Futterfische eine Rutte verirrt und die Infektion eingeschleppt haben.

Die drei Fragen also, die noch zu lösen wären, lauten:

1. Läßt sich durch die Verfütterung der von WILLIAMSON untersuchten kranken Schellfische an Salmoniden bei diesen die Taumelkrankheit erzeugen?

2. Wie erwerben die marinen Fische die Krankheit?

3. Ist die Rutte für diese Parasiten empfänglich?

Die Frage, ob eine Behandlung der Taumelkrankheit möglich sei, glauben wir angesichts der schweren Gewebsveränderungen und des Sitzes der Parasiten in den inneren Organen verneinen zu müssen. Zur Verhütung der Infektion ist Vorsicht bei der Verfütterung rohen Fischfleisches, namentlich Seefischfleisches, geboten.

### Nachschrift.

Nach Fertigstellung des Manuskriptes erhielten wir durch die Freundlichkeit von Herrn Prof. PETTIT dessen neue Arbeit: „Observations sur l'*Ichthyosporidium* et sur la maladie qu'il provoque chez la truite.“ Annales de l'Institut Pasteur, Bd. 27, Nr. 11, 25. Nov. 1913, p. 986—1008, Taf. XIII u. XIV.

PETTIT ist in einigen Punkten zu anderen Resultaten gelangt als wir. Besonders hervorgehoben sei seine Mitteilung, daß er im

Darminhalt und in den Fäces der meisten infizierten Fische zahlreiche runde Körperchen von ca.  $15 \mu$  Durchmesser findet. Sie sind von einer zarten Cystenmembran umhüllt und enthalten einen bläschenförmigen Kern. Bewahrt man diese Körperchen in Wasser auf, so bilden sie an einer Stelle einer mycelähnlichen Fortsatz. Weitere Entwicklungsstadien dieser Gebilde sind nicht beobachtet worden.

Die Infektion durch Verfütterung cystenhaltiger Organe an Salmoniden hat PETTIT ebenso wie wir mit Erfolg versucht; er sieht nach einiger Zeit die von uns beschriebenen Teilstücke im Mageninhalt und findet nach ca. 10 Tagen junge Cysten in den verschiedenen Organen.

Entgegen unseren Erfahrungen, ist es jedoch PETTIT auch gelungen, andere Süßwasserfische, wie Schleien, Karpfen und Barsche zu infizieren, und zwar sowohl durch Fütterung<sup>1)</sup> als auch durch einfaches Zusammenwohnenlassen dieser Fische mit kranken Salmoniden. Nach 6—8 Monaten starben die Fische; sie enthielten, wie sich bei der Sektion zeigte, Cysten in verschiedenen Organen.

Auch die von PLEHN und MULSOW beschriebenen, von uns nur ganz ausnahmsweise gefundenen sekundären Cysten in der Muttercyste beschreibt PETTIT und bildet sie ab. Für unsere oben ausgesprochene Vermutung, daß es sich hier um abnormale Vorgänge handelt, scheint uns der Umstand zu sprechen, daß PETTIT diese Stadien in Forellen nach Inoculation von cystenhaltigem Gewebe in das Cölom fand (zwei Fälle). Es scheint uns nicht unwahrscheinlich, daß in diesen Fällen die Vorgänge nicht ganz normal verliefen. Bei einem Versuch mit Inoculation cystenhaltigen Materials in das Cölom von Kröten zeigten sich ähnliche Erscheinungen; die meisten Cystenwänden wurden leer oder von Leucocyten und Bindegewebszellen erfüllt vorgefunden, einige wenige erhielten Sekundärcysten.

Der Ursprung der Krankheit blieb auch in dem von PETTIT studierten Falle unaufgeklärt. Wie wir, hält auch dieser Forscher eine Einschleppung durch Seefische für wahrscheinlich.

---

<sup>1)</sup> Wobei er seine Experimente auf sehr viel längere Zeit ausdehnte als wir; vielleicht entwickeln sich die Parasiten in diesen Fischen langsamer als in Salmoniden. Diese Möglichkeit hatten wir nicht in Erwägung gezogen.



### Literaturverzeichnis.

- CAULLERY, M. et MESNIL, F.: Recherches sur les Haplosporidies. Arch. de Zool. expér. T. 4 1905.
- —: Sur des Haplosporidies parasites de poissons marins. C. R. Soc. de Biol. T. 58 1905.
- DOPLEIN, F.: Lehrbuch der Protozoenkunde. II. Aufl. Jena 1909.
- : Idem. III. Aufl. Jena 1911.
- HOFER, B.: Eine Salmonidenerkrankung. Allg. Fischerei-Zeitung Bd. 18 1893.
- : Handbuch der Fischkrankheiten. II. Aufl. Stuttgart 1904.
- LAVERAN, A. et PETIT, A.: Sur une épizootie des truites. C. R. Acad. Sci. Paris T. 151 1910.
- MULSOW, K.: Die Taumelkrankheit der Salmoniden. Allg. Fischerei-Zeitung Bd. 36 1911.
- PETIT, A.: A propos du microorganisme producteur de la Taumelkrankheit: Ichthyosporidium ou Ichthyophonus. C. R. Soc. Biol. T. 70 1911.
- PLEHN, M. u. MULSOW, K.: Der Erreger der Taumelkrankheit der Salmoniden. Centralbl. f. Bakteriol. u. Parasitenk. I. Abt. (Orig.) Bd. 59 1911.
- ROBERTSON, M.: Notes upon a Haplosporidian belonging to the genus Ichthyosporidium. Proc. of the Royal Soc. of Edinburgh Vol. 17 1908.
- : Notes on an Ichthyosporidium causing a fatal disease in Sea-Trout. Proc. Zool. Soc. of London Jahrg. 1909.
- WILLIAMSON, H. C.: Report on diseases and abnormalities in fishes. Fishery board of Scotland, Scientific investigations. Jahrg. 1911 No. 2.

---

### Tafelerklärung.

#### Tafel 15.

- Fig. 1. Schnitt durch die Muskulatur einer Bachforelle. Alte, sehr starke Infektion, die zur Verkrümmung geführt hat. Hämatoxylin VAN GIESON. Vergr. ca. 12.
- Fig. 2. Schnitt durch das Auge eines Regenbogenforellen-Jährlings. Künstliche Infektion, etwa 14 Tage nach Fütterung. Hauptsächlich Befall der Chorioidaldrüse. GIEMSA. Vergr. ca. 100.
- Fig. 3. Cyste aus alter Infektion, im Winter. Kerne gleichmäßig verteilt, Plasma grob vakuolisiert. E.-H. Vergr. ca. 185.
- Fig. 4. Partie aus einer solchen Cyste, stärker vergrößert. E.-H. Vergr. ca. 600.
- Fig. 5. Granulom der Leber. Hämalaun-Eosin. Vergr. ca. 30.
- Fig. 6. Granulom der Niere. Hämalaun-Eosin. Vergr. ca. 40.
- Fig. 7. Granulom des Herzmuskels. Hämalaun-Eosin. Vergr. ca. 20.
- Fig. 8. Granulom des Hodens. GIEMSA. Vergr. ca. 50.

## Tafel 16.

- Fig. 9. Ziemlich junge Cyste, oberflächlich angeschnitten; Wabenstruktur. E.-H. Vergr. ca. 650.
- Fig. 10. Schnitt durch die Muskulatur. Hämalaun-Eosin. Vergr. ca. 90.
- Fig. 11. Längsschnitt durch die Kiemen eines Jährlings, der am 14. Tage nach Fütterung erstickte. E.-H. Vergr. ca. 56.
- Fig. 12. Längsschnitt durch die Dünndarmwand; Schleimhaut und Submukosa von Cysten durchsetzt. GIEMSA. Vergr. ca. 190.
- Fig. 13. Teil eines Schnittes durch ein stark infiziertes Herz; eine Cyste ist im Bulbus arteriosus in den Blutstrom geraten. Hämatoxylin-Eosin. Vergr. ca. 96.
- Fig. 14. Aus einem Schnitt durch eine sehr stark infizierte Leber; eine ganze Anzahl von Cysten ist in ein Blutgefäß geraten. Hämatoxylin-Eosin. Vergr. ca. 70.
- Fig. 15. Aus einem Schnitt durch die Leber. Beginnende Einschließung der Cyste durch die Gewebszellen des Wirtes. Hämatoxylin. Vergr. ca. 180.
- Fig. 16. Parasit, aus der Cyste ausschlüpfend. Hämatoxylin. Vergr. ca. 180.
- Fig. 17. Ebensolches Stadium; kernfreie Ectoplasmazone. Hämatoxylin. Vergr. ca. 500.
- Fig. 18. Pilzförmig ausschlüpfende Parasiten im Liquor cerebrospinalis. Nach dem Leben. Vergr. ca. 50.
- Fig. 19. Aus einem Schnitt durch die Leber bei beginnender Fäulnis; alle Cysten schlüpfen aus. (Im Winter.) Hämatoxylin-Eosin. Vergr. ca. 100.
- Fig. 20. Aus einem Schnitt durch die Leber eines ganz frisch fixierten Exemplars; alle Cysten schlüpfen aus. (Im Sommer.) Hämatoxylin-Eosin. Vergr. ca. 125.
- Fig. 21. Aus einem Schnitt durch die Leber, zweifelhaft, ob frisch. Kleine Cysten in einer alten Cystenülle zusammengedrängt. Hämatoxylin. Vergr. ca. 175.

## Tafel 17.

- Fig. 22. Frisch aus der Cyste geschlüpfte amöboide Individuen, in bisher intakte Hodenfollikel eindringend. Hämalaun. Vergr. 180.
- Fig. 23 u. 24. Im Magen ausschlüpfende Cysten, etwa 15 Stunden nach der Fütterung. Hämatoxylin-Eosin. Vergr. ca. 200.
- Fig. 25. Schnitt durch die Magenwand; eingedrungener Parasit in der Schleimhaut. GIEMSA. Vergr. ca. 120.
- Fig. 25. Schnitt durch den Mageninhalt, ca. 24 Stunden nach der Fütterung; zahlreiche vielkernige Plasmakugeln. E.-H. Vergr. ca. 190.
- Fig. 26. Ebensolches Stadium, Kernteilungen. E.-H. Vergr. ca. 600.
- Fig. 27. Parasit beim Beginn des Eindringens in die Schleimhaut des Magens. GIEMSA. Vergr. ca. 300.
- Fig. 28. Magenwand, etwas weiter vorgedrungener Parasit. GIEMSA. Vergr. ca. 160.
- Fig. 29 u. 30. Ähnliche Stadien, zahlreiche Parasiten. GIEMSA. Vergr. ca. 75.
- Fig. 31. Ähnliches Stadium, im Plasma des Parasiten zahlreiche stark gefärbte Inhomogenkörper. GIEMSA. Vergr. ca. 250.
- Fig. 32. Ähnliches Stadium, der Parasit zerfällt in einzelne Fragmente. GIEMSA. Vergr. ca. 260.
- Fig. 33. Ähnliches Stadium, zahlreiche Parasiten; Kerne. E.-H. Vergr. ca. 260.

Fig. 34 u. 35. Schnitte durch Herzkammer (34) resp. Bulbus arteriosus (35). Kleinste kugelförmige, wenigkernige Stadien im Blute. GIEMSA. Vergr. ca. 200.

Fig. 36. Schnitt durch das Herz; ein Exemplar im Blut, mehrere offenbar frisch eingewandert, im Muskel. GIEMSA. Vergr. ca. 150.

Fig. 37. Zupfpräparat aus der Körpermuskulatur, 6 Tage nach Fütterung; zahlreiche etwas herangewachsene, aber noch nicht encystierte Parasiten. Boraxkarmin. Vergr. ca. 180.

Fig. 38. Schnitt durch das Herz, zwischen zwei älteren Cysten eine junge. GIEMSA. Vergr. ca. 300.

Fig. 39. Schnitt durch die Herzvorkammer, zahlreiche junge Parasiten, vermutlich 5 und 6 Tage nach Fütterung. GIEMSA. Vergr. ca. 200.

*Nachdruck verboten.*  
*Übersetzungsrecht vorbehalten.*

(Aus dem bakteriologischen Laboratorium des k. u. k. Militär-sanitätskomitees in Wien. Vorstand: Stabsarzt Prof. Dr. DOERR.)

## Untersuchungen über den Zeugungskreis des *Leucocytozoon ziemanni* (LAVERAN).<sup>1)</sup>

Von  
Dr. J. Moldovan.

(Hierzu Tafel 18 u. 19.)

---

Die erste Beschreibung des Steinkauzleucocytozoons rührt von ZIEMANN her, welcher die wohlcharakterisierten spindelförmigen Gametenformen im Blute des Vogels feststellte und auch die Bildung von Microgameten aus den Microgametocyten beobachten konnte. LAVERAN stellte dann fest, daß sich nach dem Austritt der Parasiten aus dem Körper des Vogels genau dieselben sexuellen Vorgänge abspielen, wie sie für *Plasmodium*, *Proteosoma* und *Halteridium* charakteristisch sind, d. i. Reifung der Macrogameten, Bildung der Microgameten und die Befruchtung selbst. Es schien demnach die Zuordnung des Parasiten der eben genannten Protozoengruppe gerechtfertigt.

Im Jahre 1904 erschien dann die Arbeit SCHAUDINN's über den Generations- und Wirtswechsel bei *Trypanosoma* und Spirochäten, in welcher der Autor zum erstenmal einen geschlossenen Entwicklungskreis des *Leucocytozoon ziemanni* mitteilte. Als Überträger der Infektion erkannte SCHAUDINN die Mücke *Culex pipiens*, in deren Mittel-

---

<sup>1)</sup> Nach einem auf der 85. Versammlung deutscher Naturforscher und Ärzte gehaltenen Vortrage.

darm die auch in vitro beobachtete Befruchtung der Gameten zustande kommt. Nach SCHAUDINN's Feststellungen entwickelt sich aus dem befruchteten Macrogameten ein großer Ookinet, der rasch in der Längsrichtung zu wachsen beginnt und sich schließlich zu einem komplizierten Knäuel zusammenrollt. Gleichzeitig findet eine lebhafte Kernvermehrung statt und schließlich entstehen aus dem Ookineten zahlreiche Trypanosomen, die nach fortlaufender Teilung zu schlanken spirochätenartigen Flagellaten werden. Diese vermitteln dann bei dem Stich eines gesunden Vogels die Infektion, vermehren sich zunächst als solche lebhaft im Blute des Vogels, um dann jene charakteristischen Geschlechtsformen entstehen zu lassen, die wir eingangs erwähnten. Diese Gameten stellen jedoch nach SCHAUDINN nur Ruhestadien von Trypanosomen dar, in welche sie sich behufs Vermehrung umwandeln können, und die dann wieder die typische spindelförmige Ruheform annehmen. Ganz analoge Beobachtungen machte SCHAUDINN über den Entwicklungsgang des *Halteridium noctuae*.

Nach SCHAUDINN's Befunden sind demnach die Leucocytozoen als die Geschlechtsformen eines *Trypanosoma* anzunehmen.

Die Bedeutung der SCHAUDINN'schen Feststellungen wurden dadurch noch wesentlich erhöht, daß er bei dem Studium der Entwicklung des *Halteridium* und *Leucocytozoon* des Steinkauzes zu seiner bekannten Konzeption des Wesens der Befruchtung gelangte.

Es ist bekannt, daß SCHAUDINN's Befunde eine einwandfreie, allen Anforderungen entsprechende Bestätigung nicht haben finden können und daß besonders unter dem Einfluß der Untersuchungen von NOVY und seinen Mitarbeitern, die sowohl im Vogelblute wie auch im Magendarmtrakte verschiedener Mosquitos (s. auch ROSS) selbständige Flagellatenarten feststellen konnten, gegen SCHAUDINN der Einwand erhoben wurde, daß er sich durch Mischinfektionen seiner Vögel und Mücken mit Trypanosomen habe täuschen lassen. Dieser Einwand wurde auch aufrecht erhalten, als es MAYER gelang, den Entwicklungsgang von *Halteridium* in der Mücke und in der Kultur und von *Leucocytozoon* in der Mücke zum Teil im Sinne SCHAUDINN's zu verfolgen. Wie MAYER bei dem *Halteridium*, gelang es v. PROWAZEK beim *Leucocytozoon* mit vorher genau auf das Fehlen von Trypanosomen mikroskopisch kontrolliertem Blutmaterial Flagellaten zu kultivieren. Die Experimente wurden nicht als beweisend anerkannt. Auch die SCHAUDINN'schen Befunde über die Genese der männlichen und weiblichen Leucocytozoen, über die Details ihrer Struktur und endlich über ihre Umwandlung in typische Trypano-

somen wurden ebenso in Zweifel gezogen und abgelehnt, wie die theoretischen Konsequenzen, die er daraus gezogen hatte. Aus der umfangreichen, darüber entstandenen Literatur, deren detaillierte Wiedergabe uns hier überflüssig erscheint, sei jedoch hervorgehoben, daß bisher kein einziger zwingender Beweis gegen die Beobachtungen SCHAUDINN'S vorliegt.

SCHAUDINN hatte selbst seine Beobachtungen als unvollständig bezeichnet, und es war zunächst auffällig, daß bei der sonstigen Übereinstimmung mit dem Entwicklungsgang des Malariaparasiten eine Schizogonie im Körper der infizierten Steinkäuze nicht gefunden werden konnte. Auch bei anderen *Leucocytozoen* blieb das Suchen nach einem asexuellen Entwicklungskreis zunächst ergebnislos, doch konnten später verschiedene Autoren (MAYER und KEYSSELITZ, v. PROWAZEK, WENYON, CARDAMATIS, MATHIS und LEGER sowie OGAWA) einzelne Stadien der Schizogonie (junge Formen) oder der Gamogonie feststellen. FANTHAM hat dann bei dem *Leucocytozoon lovati* das Vorkommen einer Schizogonie kurz beschrieben.

Die vorliegende Mitteilung hat den Zweck, meine Befunde über die Schizogonie bei dem *Leucocytozoon ziemanni* genauer wiederzugeben und über Kulturversuche vorläufig zu berichten, deren Ergebnis eine prinzipielle Bestätigung der Beobachtungen von SCHAUDINN bildet.

Die ersten Befunde einer Schizogonie erhob ich in den Organen von zwei spontan eingegangenen Vögeln mehrere Stunden nach dem Tode. Wie sich später zeigte, machen sich rasch nach dem Tode der infizierten Vögel an den Parasiten Degenerationserscheinungen bemerkbar, so daß meine ersten Abbildungen besonders hinsichtlich der Kernverhältnisse nicht als charakteristisch angesehen werden können. Später setzte ich die Untersuchungen an zehn infizierten Steinkäuzen fort, von denen zwei eine akute Infektion mit reichlichen Schizonten im peripheren Blute zeigten, während die anderen chronisch infiziert, zum Teil schon 2 Jahre in Beobachtung standen.

Das akute Stadium der *Leucocytozoon*infektion, das mit einer Überschwemmung des Steinkauzblutes mit Parasiten einhergeht, habe ich nur im Monat Juli und Anfang August beobachten können. Die Schizogonie beherrscht das Bild, während die Gameten nur in späteren Stadien der Erkrankung in typischer Form reichlicher auftreten. Der asexuelle Cyclus spielt sich in 6tägigen Perioden ab. Am ersten Tage sind im Blute keine oder nur sehr spärliche Schizonten zu finden, dann nimmt ihre Zahl rasch zu, um zwischen dem fünften und sechsten Tage ihren Höhepunkt zu erreichen. Es

sind dann im peripheren Blute oft zahlreiche heranreifende Teilungsformen zu konstatieren. Diese verschwinden dann rasch, oft innerhalb 1 Stunde, völlig aus dem peripheren Blute, um in bestimmten inneren Organen, nach unseren Befunden fast ausschließlich in der Lunge, in zahlreiche Merozoiten zu zerfallen. Diese dringen dann sehr rasch in Zellen ein, die ihrer Kern- und Plasmabeschaffenheit nach — wie Tafelfig. 1 zeigt — als junge Leucocyten anzusehen sind. Einigemal fand ich auch Erythroblasten von jungen Schizonten, häufiger jedoch von jungen Gametocyten befallen. Schon die jüngsten endocellulären Parasiten treten mit dem Kern der Wirtszelle in innige Beziehung. Sehr bald beginnt die Kernteilung, die einen deutlichen Dimorphismus der Kernsubstanz zutage treten läßt, indem die ersten zwei durch heteropole Teilung entstandenen Kerne einander sowohl morphologisch wie auch funktionell ungleichwertig sind. Der eine Teil, kleiner, kompakt gefügt, läßt durch rasch fortschreitende Teilung die späteren Tochterkerne des Schizonten entstehen, während der zweite Teil, größer und locker gefügt, sich schließlich fragmentiert und chromidienartig zerfällt. Das Protoplasma der Schizonten, fein alveolär strukturiert, birgt im erwachsenen Parasiten außer den Kernen und den Kernderivaten oft reichliche, sich nach GIEMSA dunkelrot färbende Granulationen, die vielleicht Volutinkörnchen darstellen.

Die Präparate, nach denen die Tafelfiguren angefertigt wurden, sind nach einfacher Alkoholfixierung nach GIEMSA gefärbt worden. Sie geben über die Details der Kernteilung keinen erschöpfenden Aufschluß.

Gegen Ende der akuten Infektion verliert sich die Regelmäßigkeit der Entwicklungsperioden, und ca. Mitte August verschwinden die Schizonten mit einem Male aus dem Blute. In der Lunge dauert wohl die Schizogonie noch weiter, jedoch an Intensität bedeutend reduziert.

Bei der chronischen Infektion werden Schizonten nur sehr spärlich im peripheren Blute gefunden. Es bedarf oft wiederholter, in kurzen Intervallen durchgeführter Prüfungen während der heißen Sommermonate, um sie überhaupt festzustellen. Es sei jedoch hervorgehoben, daß wir schließlich bei allen unseren acht chronisch infizierten Steinkäuzen Stadien der Schizogonie im peripheren Blute nachweisen konnten.

Was nun die Entwicklung der Gameten anbelangt, so sind dieselben in ihren jüngsten Stadien von Schizonten nicht zu unterscheiden. Bald aber nehmen sie die charakteristische Be-

schaffenheit in Plasma und Kernstruktur an, wie sie die späteren Gameten resp. Gametocyten auszeichnet. Das sich nach GIEMSA dunkelblau färbende, reservestoffreiche Protoplasma der einen Form stempelt sie im Verein mit dem relativ kleinen Kern zum weiblichen Gametocyten, während bei der männlichen Zelle das Protoplasma licht gefärbt erscheint und die locker gefügte Kernsubstanz oft nahezu über den ganzen Parasitenleib verteilt ist. Oft ist innerhalb des Kernes bei beiden Formen eine karyosomartige Differenzierung wahrzunehmen. Der Kern der Wirtszelle erscheint zunächst nur wenig abgeplattet, bald aber hantelförmig ausgezogen, während das Protoplasma derselben den Parasiten als kaum sichtbarer Saum umgibt. Auf dieser Entwicklungsstufe, in der die typischen „Ektoplasmaspitzen“ der männlichen und weiblichen *Leucocytozoen* noch nicht ausgebildet sind und in der die Parasiten auch für die Befruchtung unreif sind, wie uns zahlreiche vergebliche Kulturversuche zeigten, können die Gametocyten durch eine ganze Sommerperiode beharren. Die Art, wie aus ihnen die erwachsenen Spindelformen entstehen und insbesondere die Genese der zugespitzten Enden, haben wir nicht feststellen können. Wir können demnach zu der Frage, ob diese Spitzen dem Parasiten angehören (SCHAUDINN, v. PROWAZEK u. a.) oder aber nur das bestimmt gerichtete Protoplasma der Wirtszellen darstellen, nicht Stellung nehmen. Wir möchten jedoch aufmerksam machen, daß wir besonders in Kulturen von *Leucocytoen*blut häufig Gameten gesehen haben, in denen das sich blau färbende Protoplasma des Parasiten die ganze Spindelform ausfüllte. Diese Streitfrage dürfte jedoch insoweit unentschieden bleiben, als die Art des Parasitismus, speziell auch die Natur der Beziehungen des Parasiten zum Wirtszellkern, über die v. PROWAZEK interessante Beobachtungen mitgeteilt hat, ungeklärt bleibt.

Teilungsformen der erwachsenen Gameten, wie sie v. PROWAZEK bei einem Hühnerleucocytozoon beschrieb, oder Doppelinfektionen einer Wirtszelle mit Gameten haben wir bei dem *L. ziemanni* nicht beobachten können; ebensowenig auch Übergänge erwachsener Geschlechtsformen zu Trypanosomen im Körper des Vogels.

Was nun den Verlauf der Infektion betrifft, so scheint dieselbe sehr frühzeitig stattzufinden und nach einem während einer ganzen Sommerperiode dauernden akuten Stadium chronisch zu werden. Während der Monate Oktober bis März—April ist die Infektion latent, die Schizonten verschwinden vollkommen aus dem Blute, ebenso häufig die Gameten. Letztere erscheinen wieder im März, um dann in fast unveränderter Zahl während des Sommers



nachweisbar zu bleiben. Die Schizonten erscheinen bei chronischen Infektionen nach unseren Beobachtungen erst im Monat Mai in sehr spärlicher Zahl. Ob sie einer Parthenogenese ihre Entstehung verdanken, oder auf in inneren Organen sich langsam abspielende Schizogonie zurückzuführen sind, muß erst entschieden werden. Wir möchten hier vorwegnehmen, daß, obwohl die männlichen und weiblichen Leucocytozoen vom Monat April—Oktober in unveränderter Zahl nachweisbar sind, ihre Eignung zur Befruchtung variiert. Sie erreicht ihren Höhepunkt anscheinend im Monat Juli.

Unter den Tafelfiguren finden sich einige Formen, die ich hier einfach registrieren möchte, ohne eine Erklärung ihrer Besonderheiten zu versuchen. Es zeigt sich (Fig. 12), daß bei einzelnen Teilungsformen die Kerne nicht rund gestaltet sind, sondern typische Spindelform besitzen. Anscheinend können beide Kernarten auch in einer Teilungsform vereint vorkommen (Fig. 11). Fig. 13 zeigt eine oft beobachtete faserige, lichtausgesparte Differenzierung im Protoplasma besonders deutlich.

### Kulturversuche.

Für die Entscheidung der wichtigen Frage, die eigentlich den Kernpunkt der SCHAUDINN'schen Feststellungen bildet, ob aus dem befruchteten Leucocytozoon-Macrogameten Trypanosomen entstehen, waren zwei Wege gegeben, und zwar die Verfolgung der Weiterentwicklung des Gameten in der Mücke (SCHAUDINN, MAYER) oder aber in der Kultur. Letztere schien einfacher und auch aussichtsreicher zu sein, zumal v. PROWAZEK gezeigt hatte, daß es mit geringen Quantitäten von Leucocytozoonblut gelingt, Flagellatenkulturen zu erhalten. Es galt nur, die Herkunft dieser Flagellaten einwandfrei sicherzustellen und dem Einwand zu begegnen, daß es sich einfach um eine Kultur schon im Vogelblut vorhandener Trypanosomen gehandelt hätte.

Als Kulturmedium verwandte ich das Kondenswasser von schräggelegtem Kaninchenblutagar (NOVY und MACNEAL). Das Kaninchenblut von erwachsenen, gesunden Tieren wurde für jeden Tagesversuch frisch entnommen, defibriniert und mit verflüssigtem und auf 45° abgekühltem gewöhnlichem Agar zunächst im Verhältnis von 1:2 gemischt und schräggelegt. Nach dem Erstarren kamen die Röhren für 24<sup>h</sup> bei 37° und wurden hierauf, wenn sie steril geblieben waren, sofort in Verwendung genommen. Es hat sich später gezeigt, daß die Verwendung älterer im Eiskasten oder bei

Zimmertemperatur aufgehobener Röhren nicht die gleich günstigen Resultate gab. Bald wurde auch die Erfahrung gemacht, daß es besser ist, die Menge des Kaninchenblutes zu reduzieren und es bloß im Verhältnis von 1:3—1:4 mit dem Agar zu mischen. Der Agar muß ordnungsgemäß auf 45° vorher abgekühlt werden, da ein Eintritt von Blutfarbstoff in das Kondenswasser infolge Hitzeschädigung der roten Blutkörperchen das Ergebnis der Kultur beeinträchtigen kann. Der erstarrte Kaninchenblutagar soll demnach eine lichterote Farbe haben, das Kondenswasser frei von Blutfarbstoff sein. Es zeigte sich ferner, daß solches Kaninchenblut, dessen Serum die Steinkauzblutkörperchen in stärkerem Maße agglutiniert oder auflöst, für die Kultur nicht sehr gut geeignet ist. — Das zu kultivierende Blut entnahm ich aus einer Flügelvene, die nach sorgfältiger Desinfektion der Haut freigelegt und angestochen wurde. Das hervorquellende Blut wurde sofort mit steriler Kapillarpipette aufgezogen und zu je 1—2 Tropfen in die bereitstehenden Kulturröhren übertragen. Um eine kompakte Koagulation der Vogelblutropfen im Kondenswasser zu verhüten, wurden die Röhren während der ersten 15 Minuten wiederholt kurz geschüttelt. Bei geeignetem Kaninchenblut durfte, wie erwähnt, nunmehr eine Agglutination oder Lyse des Vogelblutes nicht zustande kommen. Für jeden Einzelversuch wurden 7—9 Röhren aufgestellt, die dann bei Zimmertemperatur im Dunkeln unter Gummikappenverschluß belassen wurden.

Für die später zu erwähnenden Deckglaskulturen wurde stark infiziertes steril entnommenes Vogelblut mit der 3—4fachen Menge frischen Kondenswassers vermischt und dann tropfenweise auf Deckgläschen gebracht und mit Vaseline oder Paraffin auf hohle Objektträger montiert, alles natürlich unter sterilen Kautelen; ein Vorgang, wie ihn MAYER bei der Kultur von mit *Halteridium* infiziertem Steinkauzblut erfolgreich angewandt hatte.

Die ersten Kulturen wurden mit dem Blute von drei reichlich mit *Leucocytozoon* und *Haemoproteus* infizierten Steinkäuzen vorgenommen. In allen 21 Röhren waren am 4. Tage Flagellaten nachweisbar, obwohl die wiederholte Prüfung von Blutaussstrichen der Vögel auf das Vorhandensein von Trypanosomen ein negatives Resultat ergeben hatte. Der Versuch wurde noch zweimal mit demselben Resultat wiederholt. Beim dritten Male wurde die gesamte für 21 Röhren bestimmte Vogelblutmenge zunächst genauestens mikroskopisch kontrolliert, wobei Trypanosomen nicht gesehen wurden. Von dem mit Kondenswasser verdünnten Blut wurden dann je zwei Ösen in die Nährbodenröhren verimpft. In allen 21 Proben kam es nach

4—6 Tagen zur Bildung von Flagellaten. Der gegen alle derartigen Experimente (MAYER, v. PROWAZEK) gemachte Einwand, SCHUCKMANN und WERNIKE u. a., daß dennoch eine Mischinfektion mit genuinen Trypanosomen übersehen worden sei, hat hier wohl keine Geltung. Ein zufälliges Übersehen von mindestens 21 Trypanosomen in der relativ kleinen Blutmenge, die zufällig alle vermehrungsfähig gerade so zur Verteilung kamen, daß jedes Kulturröhrchen mindestens eins enthielt, ist nicht gut anzunehmen, zumal sich ja, wie bekannt, die im Steinkauz vorkommenden Trypanosomen durch eine Säugetierflagellaten weit überschreitende Größe auszeichnen. Die Beweiskraft dieser Befunde wird noch dadurch erhöht, daß in dem Blute und den Organen zweier Steinkäuze, die unmittelbar nach dem Anlegen der letzten Kulturen getötet wurden, in zahlreichen, genau auf dem verschiebbaren Objektisch untersuchten Ausstrichen kein einziges Trypanosom gefunden werden konnte.

Um die Frage der Herkunft der Flagellaten sicher zu entscheiden, wurden in neuen Kulturserien in  $\frac{1}{4}$  und dann  $\frac{1}{2}$  bis 2stündigen Pausen Proben aus den Röhrchen entnommen und im nativen und nach GIEMSA gefärbten Präparat untersucht. Dann wurden Deckglaskulturen angelegt, um die Weiterentwicklung des *Leucocytozoon* vom Momente der Befruchtung der Macrogameten an dauernd mikroskopisch verfolgen zu können.

Der Befruchtungsvorgang ist genau derselbe wie bei der Gruppe *Plasmodium-Halteridium*. Sehr bald nach dem Austritt des Blutes aus dem Körper erfolgt die Bildung der Microgameten, von denen einer einen inzwischen herangereiften Macrogameten befruchtet. Plasmatische Bewegungserscheinungen, die vorher im Innern des Macrogameten sichtbar waren, kommen plötzlich zur Ruhe. Dann sieht man in der Peripherie vacuolenartige schwach lichtbrechende Partien auftreten, der ganze Parasit nimmt an Größe zu, wird birnförmig und schließlich rollt sich unter Zurücklassung des Wirtszellkernes und eines kleinen Restkörpers ein großer Ookinet auf, genau jenen entsprechend, die SCHAUDINN und MAYER im infizierten Mückenmagen beobachten konnten.<sup>1)</sup> Der fertige Ookinet, dessen Entwicklungsgang auch in den Tafelfiguren dargestellt ist, ist sehr groß, leicht gekrümmt, im nativen Präparat sehr träge beweglich. Das eine Ende ist schlanker, das andere verbreitert und frei von jenen Reservestoffvacuolen, die den übrigen Ookinetkörper erfüllen

<sup>1)</sup> Einer brieflichen Mitteilung zufolge hat Dr. MAYER auch in Kulturen von *Leucocytozoon*blut das Auftreten typischer Ookineten vor längerer Zeit festgestellt.

und die mit zunehmendem Alter des Ookineten an Größe und Zahl abnehmen. Meist erscheint die Spitze des breiteren Endes nach GIEMSA deutlich rot gefärbt. Der Kern des Ookineten ist zunächst ein Caryosomkern, bald jedoch tritt das Caryosom aus dem Hauptkern aus, um eine Funktion des Blepharoplastkernes zu übernehmen, ein Vorgang, der sich manchmal schon vor der vollen Entwicklung des Ookineten abspielen kann (s. Fig. 25). Dann rollt sich das eine Ende des Ookineten ein, Kern und Blepharoplast lassen durch selbständige Teilung die Kernapparate von mehreren Trypanosomen entstehen, es erfolgt die Geißelbildung und die rundlichen Trypanosomen schwärmen unter Zurücklassung eines kleinen Restkörpers aus. So erfolgte den gefärbten Präparaten nach die Weiterentwicklung des Ookineten in unserer ersten, genau untersuchten Kultur Ende Juli. Das Präparat, an welchem ich diesen Vorgang verfolgen konnte, habe ich nicht mehr zur Verfügung, so daß eine Abbildung der betreffenden Formen unterbleiben mußte. Es sei nachgeholt, daß der größte Teil der Macrogameten überhaupt nicht zur Befruchtung gelangte, daß nach derselben viele degenerierten und daß auch von den vielen Ookineten nur ganz vereinzelt den oben beschriebenen sich sehr rasch abspielenden Entwicklungsgang nahmen. Die ersten Ookineten wurden 5 Stunden nach dem Anlegen der Kultur festgestellt; ihre Zahl nahm dann bis zum 4. Tage rasch zu. Wie reichlich Ookineten in Kulturpräparaten sein können, wird durch Tafelfig. 25 illustriert. Es ist oben mit besonderer Betonung erwähnt worden, daß diese erste Kultur Ende Juli angelegt wurde. Spätere Kulturserien, aus denen die in der Tafel wiedergegebenen Formen entnommen sind, führten wohl auch zur Bildung von Flagellaten, die Zahl der befruchteten Macrogameten war jedoch geringer, es wurden bedeutend weniger Ookineten ausgebildet und die Art ihrer Weiterentwicklung zu Trypanosomen war von der beschriebenen insofern abweichend als meist nur ein kleinerer Teil des Ookinetkörpers zu Flagellaten wurde. Die Ursache hierfür ist in einer Verlangsamung der Kernteilung zu suchen. Es ist oben beschrieben worden, daß zunächst die Differenzierung des Blepharoplasts erfolgt, und daß dann durch rasch fortschreitende Teilung bei gleichzeitiger Einrollung des Ookinetkörpers die Kernapparate der späteren Flagellaten entstanden. In den späteren Kulturen erfolgte Einrollung des einen Ookinetendes meist vor der ersten Teilung des Haupt- und Blepharoplastkernes — und je nachdem dieser Kernapparat in der eingerollten oder der gestreckten Partie situiert war, entwickelte sich nur der eine kernhaltige Teil zu Flagellaten,

während der andere degenerierte. Die Zahl der zunächst aus einem Ookineten entstehenden Flagellaten betrug nur 1—2. Fig. 28 der Tafel zeigt einen Ookineten, dessen eingerollte Partie in Degeneration begriffen ist, während aus dem gestreckten Teil oben zwei Flagellaten entstehen, während in Fig. 29 eine Form wiedergegeben ist, in der sich aus der gestreckten Partie ein Flagellat vollentwickelt hat, der jedoch noch mit dem eingerollten Teil in Verbindung steht. Bei Fig. 28 kann der Einwand gemacht werden, daß die Trypanosomen vielleicht nur dem Ookinetteil angelagert seien, bei Fig. 29 fällt jedoch dieser Einwand weg.

Die ersten Flagellaten in den Röhrenkulturen können schon am 2. Tage nach der Beimpfung auftreten. Ihre Zahl nimmt meist vom 4. Tage an sehr rasch zu und schließlich bildet sich an der oberen Begrenzung des Blutkörperchensedimentes eine bis 1 mm dicke Schichte von Trypanosomen. Sie lassen sich durch viele Generationen weiter impfen.

Das *Trypanosoma ziemanni* (LAVERAN), wie wir wohl im Sinne SCHAUDINN's das *Leucocytozoon ziemanni* (LAV.) jetzt bezeichnen können, ist in der Kultur kaum von anderen Kulturflagellaten zu differenzieren. Es konnte insbesondere die Angabe ROSENBUSCH's, daß bei den aus *Leucocytozoon* entstehenden Flagellaten der Blepharoplast im hinteren Drittel des Parasitenkörpers situiert sei, während der Hauptkern in der Mitte oder im vorderen Drittel liegen soll, nicht bestätigt werden. Der Blepharoplast war vielmehr bei der überwiegenden Mehrheit unserer Kulturflagellaten neben dem Hauptkern gelagert. Die undulierende Membran ist meist sehr schmal, die Geißel übertrifft oft die Länge des Parasitenkörpers. In Übereinstimmung mit SCHAUDINN konnte festgestellt werden, daß bei dem *Trypanosoma ziemanni* die Agglomeration stets mit dem Hinterende stattfindet. Die Kulturflagellaten sind, wie ja bei Trypanosomenkulturen gewöhnlich der Fall, Chritidienformen.

Die äußere Form der Flagellaten variierte je nach dem Zustande und dem Alter der Kultur in weiten Grenzen. Sehr schlanke, spirochätenartige Trypanosomen habe ich überhaupt nicht beobachten können. Jedoch sei betont, daß die bisherigen Kulturergebnisse nicht dazu berechtigen, Formtypen einzelner Flagellaten aufzustellen, wie es z. B. SCHAUDINN für die Entwicklung im Mückenkörper mit vollem Rechte getan hat, und ebensowenig ist es gestattet, aus identischen Formen in der Kultur auf einen Rückschluß auf die Übereinstimmung der Ausgangsparasiten zu ziehen. Die Kultur in den bisher gebrauchten Nährmedien bietet nicht annähernd so

adäquate Entwicklungsmöglichkeiten für das *Trypanosoma ziemanni*, wie es dieselben im Körper der Mücke vorfindet und wenn hier nach den Angaben von SCHAUDINN aus den schon sexuell differenzierten Ookineten zahllose Trypanosomen entstehen, die durch rasch fortschreitende Teilung kaum sichtbare spirochätenartige Flagellaten entstehen lassen, die auch sexuell differenziert sind und leicht die Infektion auf gesunde Vögel übertragen können, sehen wir in der Kultur im günstigsten Fall aus einem ganzen sexuell anscheinend nicht differenzierten Ookineten nur spärliche, der Form nach uncharakteristische Flagellaten entstehen, die bald Zeichen von Degeneration erkennen lassen. Ob es durch Verbesserung der Technik gelingen kann, eine größere Übereinstimmung zwischen der Entwicklung in der Kultur und im Mückenkörper zu erzielen, mag dahingestellt bleiben.

Mit frischen Flagellatenkulturen vorgenommene Infektionsversuche an scheinbar gesunden Steinkäuzen blieben ergebnislos, obwohl das Impfmateriel bei demselben Vogel intramuskulär, intravenös und intrapulmonal zur Injektion kam. Die Versuche sollen an solchen Steinkäuzen wiederholt werden, die vom Momente des Ausschlüpfens aus dem Ei in der Gefangenschaft, vor Mückenstichen geschützt, aufgezogen wurden. Jedoch ist zu bedenken, daß auch mit Kulturen von Säugetiertrypanosomen Infektionen oft nicht zu erzielen sind.

Die Ergebnisse der Deckglaskulturen lassen sich dahin zusammenfassen, daß es mir zunächst überhaupt nicht gelang, die Bildung von Flagellaten zu erzielen, was einen entschiedenen Gegensatz zur leichten Kultivierbarkeit des *Halteridium syrni* (MAYER) bildet. In dem Material, das ich direkt vom Vogel für die Kulturen verwandte, habe ich leicht den Befruchtungsvorgang und zweimal während einer dreitägigen konstanten Beobachtungsdauer die Entwicklung eines Ookineten nachweisen können, der jedoch rasch degenerierte. Als ich zur Impfung der Deckglaskulturen aus den Röhrcchen entnommene Ookineten benutzte, zerfielen dieselben auch bald, ohne sich weiter zu entwickeln.

Es gilt hier noch die Möglichkeit zu berücksichtigen, daß ein Teil der in der Kultur zur Entwicklung gelangten Flagellaten nicht dem *Leucozytozoon ziemanni* angehören, sondern dem *Halteridium noctuae*, mit welchem Parasiten unsere Steinkäuze z. T. auch reichlich infiziert waren. Ich habe von vornherein meine Aufmerksamkeit gerade auf diese Frage gerichtet, bei meinen bisherigen Versuchen jedoch niemals sichere Anhaltspunkte für eine Weiterentwicklung meiner *Halteridium*-Formen zu Flagellaten gewinnen können. Auch ergaben

die Kulturversuche mit dem Blute eines Steinkauzes, das außer einer akuten Infektion mit *Leucocytozoon* (jedoch ohne entwickelte Gameten) reichlich Halteridien mit erwachsenen Geschlechtsformen zeigte, ein vollständig negatives Resultat. Ob dieses negative Ergebnis darauf zurückzuführen ist, daß die von mir untersuchten Parasiten nicht Halteridien, sondern einkernige Hämoproteusformen darstellen, vermag ich nicht mit Bestimmtheit zu entscheiden. Auffällig ist jedenfalls auch die Erfolglosigkeit der Deckglaskultur, in der ja, wie besonders MAYER gezeigt hat, bestimmte Halteridien, so glatt zur Entwicklung gelangen.

Was die Färbetechnik anbelangt, deren wir uns bedienten, so wurde bereits erwähnt, daß die auch nativ beobachteten Proben stets nach Alkoholfixation nach GIEMSA gefärbt wurden. Es war auf diese einfache Art möglich, die Schwierigkeit der Anfertigung und Beobachtung so zahlreicher Präparate zu überwinden. Ich bin mir der Mängel dieser Technik wohl bewußt, sie genügte jedoch für den Zweck, der mir zunächst vor Augen schwebte, einen Beweis für die Trypanosomennatur des *Leucocytozoon ziemanni* überhaupt zu erbringen. Aufgabe späterer Untersuchungen wird es sein, sich näher und intensiver mit den so wichtigen Beobachtungen SCHAUDINN's zu befassen, statt, wie es die meisten seiner Gegner taten, auf Grund unzureichender, absolut nicht beweisender Gegenargumente, auf Grund von Vermutungen oder scheinbaren Analogien mit anderen Parasiten über SCHAUDINN's Befunde und ideenreiche Konsequenzen einfach den Stab zu brechen.

### Zusammenfassung.

Die Infektion des Steinkauzes mit dem *Trypanosoma ziemanni* beginnt mit einem akuten Stadium, das durch eine sehr lebhafte auch im peripheren Blute nachweisbare Schizogonie beherrscht wird, die in 6 tägigen Perioden abläuft. Bei dem folgenden chronischen Stadium sind die Geschlechtsformen im Blute vorherrschend, jedoch gelang es auch bei solch chronisch infizierten Vögeln stets Stadien der Schizogonie im peripheren Blute nachzuweisen. Voraussetzung hierfür war, die Vornahme häufiger Untersuchungen während der heißen Sommerzeit.

Es ließ sich auch die Entwicklung der Gamonten z. T. verfolgen, ohne daß es jedoch gelang, die Art der Bildung der erwachsenen spindelförmigen Geschlechtsformen erschöpfend aufzuklären.

Kulturversuche führten zu dem Ergebnis, daß aus dem befruchteten Macrogameten, wohlcharakterisierte Ookineten entstehen, die sich dann zu Flagellaten weiterentwickeln.

---

### Literaturverzeichnis.

- ZIEMANN, H.: Über Malaria- und andere Blutparasiten. Jena 1895.  
 LAVERAN: C. R. Soc. Biol. T. 55 1903.  
 SCHAUDINN: Arb. a. d. kais. Gesundheitsamt Bd. 20 1904.  
 SERGERT, ED. et ET.: C. R. Soc. Biol. T. 58 1905 und Ann. Pasteur T. 21 1907.  
 NOVY and MACNEAL: Journ. of Inf. Dis. Vol. 2 1905.  
 — — and TORREY: Journ. of Hyg. Vol. 6 1905.  
 ROSS, R.: Ebenda.  
 MAYER: Arch. f. Protistenk. Bd. 21 1911.  
 v. PROWAZEK: Ebenda Bd. 26 1912 und Centralbl. f. Bakteriologie. I. Orig. Bd. 62 1912.  
 MAYER u. KEYSSELTZ: Arch. f. Protistenk. Bd. 16 1909.  
 WENYON: 3. Rep. of the Wellcome Res. Laborat. Khartoum 1908.  
 CARDAMATIS: Centralbl. f. Bakt. I. Orig. Bd. 60 1911.  
 MATHIS et LEGER: Res. de Parasitol. etc. au Tonkin. Paris 1911.  
 OGAWA: Arch. f. Protistenk. Bd. 24 1911.  
 FANTHAM: Ann. of trop. Med. and Parasitol. Vol. 4 1910.  
 MOLDOVAN: Centralbl. f. Bakt. I. Orig. Bd. 71 1913.  
 ROSENBUSCH: Arch. f. Protistenk. Bd. 15 1909.  
 SCHUCKMANN und WERNICKE: Centralbl. f. Bakt. I. Orig. Bd. 68.

---

### Tafelerklärung.

#### Tafel 18.

Sämtliche Figuren wurden gezeichnet mit einer Vergrößerung von 1:2000. Eine Ausnahme bildet nur Fig. 25 mit einer Vergrößerung von 1:1000.

Fig. 1. Nichtparasitierte Wirtszelle.

Fig. 2—10. Stadien der Schizogonie.

In Fig. 2 ist der Kern noch einheitlich, in Fig. 3 beginnt bereits die Kernteilung. Wie in den weiteren Figuren sichtbar ist, treten überall zwei differente Kernsubstanzen im Parasiten zutage, von denen die eine kompakt gefügte die späteren Tochterkerne aus sich hervorgehen läßt, während die zweite schließlich im Protoplasma aufgelöst wird. In Fig. 8—10 sind im Protoplasma licht ausgesparte Faserzüge sichtbar, die in der Form Fig. 13 besonders deutlich zum Ausdruck kommen.

#### Tafel 19.

Fig. 11—13. Stadien der Schizogonie. In Fig. 12 ist die Spindelform der Schizontenkerne sichtbar.



Fig. 14. Junger männlicher Gametocyt.

Fig. 15. Erwachsener Microgametocyt.

Fig. 16 und 19. Trypanosomen aus dem Blute resp. der Lunge von Steinkäuzen, die gleichzeitig mit Leucocytozoon infiziert waren. Es sind dies jene Flagellaten, die SCHAUDINN als Schwärmstadien der männlichen und weiblichen Leucocytozoen aufgefaßt hat.

Fig. 17. Junger weiblicher Gametocyt.

Fig. 18. Macrogamet.

#### Kulturpräparate.

Fig. 20. Befruchteter Macrogamet, in dem bereits die Konturen des späteren Ookineten sichtbar sind; am zweiten Tage der Kultur.

Fig. 21—24. Weitere Entwicklungsstadien des Ookineten, in welchen schon eine Differenzierung des Blepharoplastkernes neben dem Hauptkern sichtbar ist. In Fig. 24 Teilung des Blepharoplastkernes; am zweiten Tage der Kultur.

Fig. 25. Ein Haufen junger Ookineten mit noch einheitlichem Kern.

Fig. 26. a) Zum Teil eingerollter Ookinet; Kern im gestreckten Teile sichtbar, eingerollter Teil in Degeneration begriffen. b) Eingerollter Ookinet; Haupt- und Blepharoplastkern — miteinander verbunden — im runden Teile befindlich, während die übrige Partie des Ookineten degeneriert ist.

Fig. 27. Weiteres Entwicklungsstadium von 26b. In der runden geißellosen Form sind deutlich die Kernapparate zweier Flagellaten sichtbar.

Fig. 28. Weiteres Entwicklungsstadium von Fig. 26a. Aus der gestreckten Partie hat sich ein mit dem degenerierenden Teil noch in Zusammenhang stehender, in Teilung begriffener Flagellat entwickelt.

Fig. 29. Ähnliche Form wie Fig. 28 mit dem Unterschiede, daß auch der eingerollte Teil des früheren Ookineten anscheinend entwicklungsfähig geblieben ist. In diesem Teile ist ein Hauptkern mit je einem blepharoplastähnlichen Kernteil an beiden Polen sichtbar.

Fig. 30. Umwandlung eines ganzen Ookineten in Flagellaten.

Fig. 31. Kulturflagellat, Chritidienform.

Die Formen Fig. 1—6, 14, 15, 17, 18 stammen aus dem Blute lebender, 7—13, 16, 19 aus der Lunge frisch getöteter Steinkäuze.

*Nachdruck verboten.  
Übersetzungsrecht vorbehalten.*

## **Zur Kenntnis der Symbiontenübertragung bei viviparen Cocciden und bei Psylliden.**

Von  
**Dr. phil. Fritz Breest,**  
Zoologisches Institut München.

(Hierzu Tafel 20 u. 21.)

---

### **Einleitung.**

Erst die letzten Jahre brachten die Erkenntnis über die wahre Natur von Gebilden, auf die man beim Studium der Embryonalentwicklung zahlreicher Hemipteren verhältnismäßig schon vor langer Zeit aufmerksam geworden ist, und die man beim erwachsenen Tier sich zu bisweilen recht beträchtlichen Organen entwickeln sah. Man nannte sie Pseudovitellus, sekundären Dotter, oder gab ihnen noch andere Namen und Funktionen. Seit PIERANTONI und SULĚ wissen wir nun, daß diese rätselhaften Gebilde die Wohnstätten von Saccharomyceten sind, Pilzen, die in regelmäßiger Symbiose mit den Insekten leben.

Die Geschichte dieser Pilzorgane, ihre verschiedenartigen Deutungen bis zur Erkenntnis der wahren Verhältnisse, und unsere Kenntnisse über die Verbreitung dieser Symbiose kann ich hier übergehen, da BUCHNER vor kurzem diese Fragen an der Hand der Literatur und eigener Untersuchungen eingehend behandelt hat.

Eine der interessantesten Erscheinungen dieser Symbiose ist die Übertragung der Pilze von dem Muttertier auf die junge Generation. Durch die Untersuchungen PIERANTONI's und besonders BUCHNER's sind wir über diesen Punkt verhältnismäßig recht gut aufgeklärt.

Stets findet die Übertragung noch im Mutterleib selbst statt — wie es ja bei der absoluten Konstanz der symbiotischen Erscheinung ja eigentlich auch selbstverständlich ist. Die Eier werden nicht etwa diffus infiziert, sondern in ganz gesetzmäßiger Weise zu bestimmter Zeit, an bestimmter Stelle. Bei einem Teil der Cocciden dringen die Pilze auf dem Wege des Nährstrangs am vorderen Eipol ein, teils einzeln, teils in cystenartigen Verbänden, bei einem anderen Teil der Cocciden, bei Aphiden und den anderen untersuchten Formen, Aleurodiden, Cicaden, Cicadelliden, am hinteren Eipol. Hier ist es ein ganz bestimmter Bezirk des Follikels, der den Pilzen den Durchtritt zum Ei gestattet, und zwar kann dieser Bezirk ringförmig sein, wie bei Aphiden, oder kappenförmig, wie bei Cicaden, oder das Eistielchen bestimmt den Einwanderungsort (Aleurodiden). Auch hier können Einzelpilze einwandern, oder cystenartige Verbände, was bei nahe verwandten Arten verschieden sein kann (Aphiden BUCHNER'S). Ja, es ist sogar die Einwanderung vollkommener Pilzzellen, Mycocyten, mit wohl erhaltenen Kernen festgestellt worden, bei Aleurodiden. Im Ei können die Pilze sich verschieden verhalten. Sie bleiben im Keimhautblastem liegen, oder wandern tiefer hinein, in den Dotter, sie können isoliert bleiben oder sich in Gruppen vereinen und gegen das Ei zu sich durch Membran abgrenzen. Kurz, wir sehen trotz aller Ähnlichkeit im großen eine sehr bedeutende Mannigfaltigkeit der Erscheinungen im einzelnen; und man kann sagen, daß jede neu zur Untersuchung kommende Art diese oder jene besondere Charakteristika aufweisen wird.

Alle bisherigen Untersuchungen beschrieben, daß die Pilzübertragung auf das Ei stattfindet, auch bei der von PIERANTONI untersuchten ovipareren Coccide. Nun ist es aber nach den Angaben von WILL 1888, STEVENS 1905 und TANNREUTHER'S 1907 nicht zweifelhaft, obwohl von ihnen der „sekundäre Dotter“ als Pilzsymbionten noch nicht erkannt war, daß bei der Sommergeneration, also viviparen Formen von Aphiden, die Pilze erst in den Embryo eindringen, wenn auch auf frühem Stadium, nach der Blastodermbildung — auch hier scheinen wieder feinere Unterschiede bei verschiedenen Arten vorzukommen. Für *Aspidiotus nerii* BICHÉ, jetzt *Aspidiotus hederae* SIGN. — Nomenklatur LINDINGER'S — einer viviparen Coccide liegt nun eine alte Beobachtung METSCHNIKOW'S (1866) vor, die auf ähnliche Verhältnisse wie bei viviparen Aphiden schließen läßt, daß also nicht das Ei, sondern erst der Embryo infiziert wird.<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> METSCHNIKOW schreibt darüber: „Beim Wachstum des Keimbügels in das Innere der Dottermasse“ — also zur selben Zeit etwa wie bei den viviparen

Privatdozent Dr. BUCHNER forderte mich auf zu untersuchen, wie weit bei viviparen Cocciden diese Embryoinfektion analog den viviparen Aphiden statthat. Für seine liebenswürdige Unterstützung bei Abfassung der folgenden Studie möchte ich ihm auch an dieser Stelle meinen herzlichsten Dank sagen.

Um das Resultat meiner Untersuchung vorweg zu nehmen: Die nach den Angaben METSCHNIKOW's zu erwartende Analogie mit viviparen Aphiden existiert nicht, auch bei viviparen Cocciden, von denen Vertreter beider Gruppen mit viviparen Formen, Diaspinen und Lecaniinen, untersucht wurden <sup>1)</sup>, wandern die Pilzsymbionten in das Ei, nicht in den Embryo. Das hängt wohl wiederum damit zusammen, daß die Embryonalentwicklung hier erst beginnt, wenn das Ei zu voller Größe angewachsen ist. Der Fall der Embryoinfektion der Aphiden bleibt also eine Ausnahmeerscheinung, bedingt durch den außergewöhnlich frühen Beginn der Embryonalentwicklung.

Im einzelnen die Beobachtungen METSCHNIKOW's, die zu seiner irrthümlichen Auffassung über die Entstehung des „sekundären Dotters“ Veranlassung gaben, in ihrer richtigen Bedeutung klar zu legen, habe ich nicht versucht, da sie zu der Infektion sicherlich in

---

Aphiden — „differenzieren sich einige Zellen . . . an der äußersten Peripherie des Keimhügels, in denen man einen runden Kern und ein körnchenreiches Protoplasma wahrnimmt. Anfangs erscheinen diese platten Zellen ungefärbt, bald aber erhält ihr Inhalt eine braune Färbung. Ein auffallender Unterschied besteht in der Anordnung der den sekundären Dotter zusammensetzenden Zellen, und namentlich darin, daß diese Zellen bei *Aspidiotus* nicht in einem Haufen wie bei *Aphis*, sondern zerstreut liegen.“ — „Während die Zellen des sekundären Dotters“ — bei weiterer Entwicklung — „bei *Aphis* fortdauern, erfahren sie bei *Aspidiotus* eine rückschreitende Metamorphose, infolge deren sie sich gänzlich auflösen. Dieser Vorgang manifestiert sich dadurch, daß die Zellen des sekundären Dotters sich mit schwarzen Körnchen anfüllen und infolge davon ihren Kern verlieren; etwas später verschmelzen solche degenerierten Zellen zusammen, große Haufen bildend, und erscheinen dann bloß als feinkörnige schwarze Massen. Noch später verbreiten sich die Körnchen im ganzen Leibe des Embryos, und so verschwinden die letzten Spuren des ursprünglichen Dotters.“ — „Zu gleicher Zeit findet die Lageveränderung des Embryos statt.“

<sup>1)</sup> Bezüglich der Untersuchungsmethode möchte ich bemerken, und das gilt auch für die Psylliden, daß Paraffineinbettung über Zedernholzöl günstiger ist als Xylobehandlung, bei der das Chitin sich oft recht unangenehm bemerkbar macht. Die deutlichste Färbung der Pilze habe ich mit DELAFIELD's Hämatoxylin und Nachfärbung mit Eosin erzielt, mit der die Pilze einen bläulich roten Ton annehmen, wodurch sie sich sehr schön von dem rot gefärbten Eidotter abheben. Ausstrichfärbungen habe ich nicht gemacht, da mir nur fixiertes Material — in Bonin und Carnoy — vorlag.

keiner Beziehung stehen. METSCHNIKOW untersuchte lebendes Material, ich Schnitte.

### Die Symbiontenübertragung bei viviparen Cocciden.

*Aspidiotus hederæ* SIGN. (= *A. nerii* BCHÉ), auf Oleander lebend, steht bezüglich der Symbiose insofern auf primitiverer Stufe, als sie ihre Symbionten noch verstreut im Fettgewebe beherbergt. Von pilzfreen Fettzellen finden sich alle Übergänge bis zu Zellen, die, vollständig mit Pilzen gefüllt, nicht mehr den Namen Fettzelle verdienen, sondern Mycetocyten — Nomenklatur SULZ's — genannt werden müssen.

Jedes Ei hat seine eigene Nähranlage. Während die Nährzellen noch in Tätigkeit sind — aber nicht so früh, wie wir es bei der *Lecanium*-Art sehen werden, lagern sich pilzhaltige Zellen um den verjüngten Teil der Nähranlage zwischen Nährzellen und Ei und hüllen ihn mehr oder weniger je nach den räumlichen Verhältnissen ein (Fig. 1). Sitzt die Nähranlage dem Ei schief auf, so erscheint der dabei gebildete spitze Winkel besonders bevorzugt. Die Pilze verlassen die Zellen und treten einzeln durch den Nährstrangfollikel in den Raum zwischen ihm und dem Nährstrang, wo sie geraume Zeit verbleiben. Sie sind dort schon vorhanden, wenn der Vorkern im Ei sich noch in den zentralen Partien befindet. Hat der Vorkern die Eiperipherie erreicht und steht er vor der Reifeteilung, so dringen die Pilze auf dem Nährstrang einzeln ins Ei ein, während die Nähranlage allmählich atrophiert. Während der Reifeteilung sind die Pilze bereits im Ei, sie liegen einzeln in Bläschen der randlichen Plasmapartien, des Keimhautblastems (Fig. 2). Das prinzipiell Wichtige hierbei ist also, daß das Ei infiziert wird, nicht der Embryo.

Bei der nun folgenden Blastodermbildung wandern die Pilze wieder einzeln, nicht in geschlossenen Haufen, aus dem oberflächlichen Plasma tiefer in den Dotter vor (Fig. 3), sie kommen also hinter das Blastoderm zu liegen. Die Embryonalentwicklung nimmt vom gegenüberliegenden, also dem hinteren, Eipol ihren Anfang. Die Pilze bleiben in größerer Menge am Vorderende des Eies, also in der Kaudalregion des weiterwachsenden Embryos angesammelt; doch dringen sie vereinzelt bis etwas über die Hälfte des Embryos vor, die Umgebung der Kopfanlage bleibt stets frei von Pilzen. Im Dotter werden nun die Pilze sehr allmählich von Zellen aufgenommen, die sich wohl von Furchungszellen im Dotter herleiten, die an der Blastodermbildung keinen Anteil genommen haben. Fig. 4 zeigt

einen Embryo noch ohne Anlage der Gliedmaßen, eine Anzahl Pilze ist bereits von Zellen aufgenommen, wie sie hier und da im Dotter zu bemerken sind. Ein Pilz liegt noch frei im Dotter. Auf Fig. 5 ist ein erheblich älterer Embryo dargestellt, mit Gliedmaßen, schon nach der Umrollung. Das Bild der Pilze ist im wesentlichen das gleiche: neben Pilzen in Zellen und Zellgruppen finden sich noch zahlreiche Pilze frei im Dotter, und erst auf einem späteren Stadium, wenn der Dotter zum größten Teil aufgebraucht ist, treffen wir die Pilze sämtlich in Zellen in einer Form, wie sie im Muttertiere vorhanden sind (Fig. 6).

Die Fig. 7—26 mögen eine Vorstellung von den Formwandlungen der Pilze während einer Coccidengeneration geben. Sie sind alle bei gleicher Vergrößerung gezeichnet und geben, direkt miteinander vergleichbar, ein deutliches Bild von den verschiedenen Größenverhältnissen.

Fig. 7 gibt eine Mitose einer mütterlichen Fettzelle. Die Pilze sind sehr klein, rundlich, etwa  $1-2 \mu$  im Durchmesser, sie haben sich an der Peripherie der sich teilenden Zelle gesammelt. Fig. 8 zeigt sie schon stark angewachsen,  $3-4 \mu$  lang,  $2 \mu$  breit, ein Bild, wie man es in der Regel zu sehen bekommt. Ohne bestimmte Anordnung liegen sie in der Fettzelle, jeder einzelne in besonderer Plasmavacuole. Sie sind ein wenig länglich geworden, das eine Ende meist gerundet, das andere leicht zugespitzt. Ihre Struktur fängt an ungleichmäßig zu werden, ein grob vacuolisiertes, schaumiges Aussehen zu bekommen, was Fig. 9 in erhöhtem Maße zeigt, wo sie bis zu  $9 \mu$  etwa angewachsen sind. Diese, wie Fig. 10 möchte ich als Vorstadien einer Vermehrung deuten, denn Fig. 11—14 zeigen die Pilze wieder kleiner, in ihrer Struktur gleichmäßiger. Man sieht, wie sie gruppenweis, nesterartig beieinander liegen, und die Annahme erscheint berechtigt, daß diese Stadien aus dem Zerfall der großen Gebilde hervorgegangen sind. Nach einer oder mehreren solcher Vermehrungsperioden dringen die Pilze von mittlerer Größe in die Nähranlage ein. Dort können sie anwachsen, bis etwa  $6 \times 3 \mu$ , und ein schaumiges Aussehen annehmen (Fig. 15), gewöhnlich aber dringen sie in der länglichen, halbabgerundeten, halbspitzen Form ins Ei (Fig. 1).

In der plasmatischen Randschicht des Eies und weiterhin während der Blastodermbildung im Dotter wachsen sie gewaltig an zu ausgeprägt traubigen Gebilden von etwa der gleichen Größe wie vordem im mütterlichen Fettgewebe, wenn sie eine schaumige Struktur anzunehmen scheinen. Es ist interessant, daß bei beiden Größenzunahmen,

die zweifellos zur Vermehrung führen, die innere Struktur eine andere ist, was vielleicht mit den verschiedenen Ernährungsbedingungen im mütterlichen Fett und im Dotter des Embryos in Verbindung zu setzen ist. Die traubigen Gebilde zerfallen deutlich in große runde Pilze (Fig. 16—20), die dann in dieser Form in der oben besprochenen Weise von besonderen Zellen aufgenommen werden (Fig. 21, 22). Doch auch schon traubige Pilzformen werden von Zellen aufgenommen (Fig. 23). Es herrscht hierbei keine ganz strenge Gesetzmäßigkeit, wie ja auch der Zeitpunkt der Aufnahme von den Zellen nicht fixiert ist, sondern dieser Vorgang sich während einer recht beträchtlichen Periode der Embryonalentwicklung hinzieht. Wir können in dieser Erscheinung Andeutung der verhältnismäßig primitiven Symbiose bei dieser Coccide wiederfinden, die wir schon darin antrafen, daß hier die Symbionten noch diffus im Fettkörper verteilt sind und es noch nicht zur Bildung eines ausschließlich im Dienste der Pilzsymbionten stehenden Organes gekommen ist.

Ob Bilder, wie Fig. 24, 25, die auf eine zweite, andersgeartete Zerfallsperiode innerhalb der Zellen deuten lassen, regelmäßige Glieder des Pilzcyclus sind, oder ob sie extreme Einzelfälle darstellen, vermag ich nicht zu sagen. Jedenfalls aber verlieren die Pilze im Laufe der weiteren Embryonalentwicklung an Größe und gewinnen innerhalb der Zellverbände, wie Fig. 26 zeigt, wieder ihre Ausgangsform zurück, von der wir bei der Besprechung des Pilzcyclus im mütterlichen Fettgewebe ausgegangen sind (Fig. 7, 8).

Prinzipiell die gleichen Befunde wurden bei der Pilzübertragung einer auf einer Palme lebenden viviparen *Lecanium*-Art gemacht. Auch diese Coccide besitzt kein geschlossenes Pilzorgan; doch kann man die Ansätze dazu darin sehen, daß die Pilze sich in den inneren Partien des peripheren Fettgewebes vorzugsweise ansammeln, und daß die Unterschiede zwischen pilzhaltigen und pilzfreien Zellen durch Übergänge nicht so verwischt sind wie bei *Aspidiotus*.

Auch hier dringen bei der Infektion die Pilze einzeln durch den noch gut erhaltenen Follikel der Nähranlage und sammeln sich in dem Raum zwischen Follikel und Nährstrang. Und zwar geschieht diese Einwanderung schon auf einem sehr jungen Stadium; wir finden die Pilze schon dort vorhanden, wenn das Ei erst etwa die gleiche Größe wie die Nähranlage erreicht hat (Fig. 27), also viel früher als bei *Aspidiotus*. Während des ganzen noch erfolgenden riesenhaften Anwachsens des Eies bleiben die Pilze dort liegen, und erst bei Atrophierung der Nähranlage kurz vor oder während der Reifeteilung — auch PIERANTONI erwähnt, daß der Zeitpunkt des Ein-

dringens bei *Icerya* nicht in konstantem Zeitverhältnis zu den Reife-  
teilungen steht und vor oder während ihnen stattfindet — dringen  
die Pilze ins Ei ein (Fig. 28). Von nun an aber ist ihr Weg ver-  
schieden von dem der *Aspidiotus*-Pilze. Sie verteilen sich nicht im  
Dotter, sondern bleiben nahe beieinander im Keimhautblastem liegen,  
und niemals gelangen sie in den Dotter. Bei der Embryonalent-  
wicklung wird die Plasmapartie, in der sie liegen, von dem Blastoderm  
gleichsam aufgenommen, es scheint eine Art von Tasche gebildet,  
in der die Pilze, von dem Dotter durch eine deutliche Membran  
getrennt, verbleiben. Sie verändern hier teilweise ihre Form und  
Aussehen, werden rund und bekommen ein außerordentlich lockeres  
Gefüge, so daß sie bisweilen den Eindruck sehr chromatinarmer  
Kerne machen (Fig. 29, 30).

Späterhin treten unzweifelhaft Kerne auf (Fig. 31), die wohl zu  
den aus dem Dotter stammenden Zellen gehören, die wie die „Pilz-  
zellen“ bei *Aspidiotus* sich nicht an der Blastodermbildung beteiligten,  
sondern im Dotter verblieben und nun zu den Pilzen wandern und  
sie in sich aufnehmen. Mit dem Heranwachsen des Embryos wächst  
auch das Pilzorgan, so muß man es nun wohl bezeichnen, obwohl  
die Pilze durchaus nicht dicht gedrängt liegen, sondern überall viel  
Raum für das Plasma lassen (Fig. 31). Es liegt am Kaudalende,  
bzw. Abdomen des Embryos, von diesem durch eine deutliche Membran  
getrennt, und enthält eine ganze Anzahl rundlicher Kerne (Fig. 32).  
Und auch nach der Umrollung des Embryos bietet das Pilzorgan,  
nun durch eine Dotterschicht von ihm getrennt, der Rückwand dicht  
anliegend, das gleiche Bild wie vorher (Fig. 31).

Im Gegensatz zu dem wechselreichen Bild, das der Pilz der  
Oleandercoccide uns geboten hat, zeigt der oben behandelte ein außer-  
ordentlich einförmiges, sich fast immer gleichbleibendes Aussehen.  
Etwa 5  $\mu$  lang, 2  $\mu$  breit ist er verhältnismäßig schlanker gebaut  
als der Oleanderpilz, die Zuspitzung des einen Endes ist schärfer,  
häufig erscheint auch das andere Ende mehr verjüngt als abgerundet.  
Besonders unterscheidet er sich von dem erstbehandelten auch in  
der Struktur, die gleichmäßig locker ist, ohne je das schaumige und  
traubige Bild der Oleandercoccide zu geben. (Außer den schon be-  
sprochenen Figuren die Fig. 34—37, die verschiedene Bilder aus  
dem mütterlichen Gewebe wiedergeben.) Eine Teilung unter Aus-  
ziehen in zwei ungleiche Hälften zeigt Fig. 35, und in Fig. 34 finden  
wir kleine glänzende Excretkörnchen, deren Vorkommen sehr un-  
gleichmäßig ist, und über die keine Untersuchungen angestellt sind.  
Es sei darauf hingewiesen, daß in den Pilzorganen verschiedentlich



lebhaft gefärbte Excretkörnchen beschrieben worden sind, die vielleicht mit dem Stoffwechsel der Pilze in Zusammenhang stehen, über deren Natur und Bedeutung wir aber nichts wissen.

Nur ein einziges Mal im *Cyclus* des Pilzes finden sich Bilder, die von dem gewöhnlichen Aussehen abweichen, und das ist, wie schon gesagt, im Blastoderm, während der ersten Embryonalentwicklung. Da treten neben unveränderten Pilzen Formen auf, die kreisrund, stark aufgelockert, mehr oder weniger blaß sind, und in allen Übergängen große Ähnlichkeit mit bläschenförmigen, chromatinarmen Kernen zeigen, so daß bisweilen eine scharfe Unterscheidung, was ist Kern, was ist Pilz, schwer durchzuführen ist (Fig. 29, 30). Nach Analogieschlüssen möchte ich annehmen, daß das Vermehrungsstadien der Pilze sind, denn sehr verbreitet finden wir die Eigentümlichkeit, daß die Pilze sich beim oder nach dem Eintritt in das Ei, wohl angeregt durch die neuen Lebensbedingungen, eifrig vermehren.

### Die Symbiontenübertragung bei Psylliden.

Die Psylliden bieten bezüglich der Übertragung ihrer Pilzsymbionten auf die Eier insofern besonderes Interesse, als hier zum ersten Male beobachtet wurde, daß Gebilde, die aus dem mütterlichen Körper stammten, vom Ei aufgenommen werden. METSCHNIKOW (1866) beschreibt diesen Vorgang, daß sich am hinteren Eipol ein Teil des Follikels umbilde, Kugelform annähme und in das Ei einwandere, Angaben, die von WITLACZIL (1885) bestätigt wurden, der das runde Körperchen mit dem Eistielchen in Verbindung brachte. Nachdem nun PIERANTONI und SULĀ (1910) die wahre Natur des „Pseudovitellus“ erkannt hatten, war kein Zweifel mehr möglich, daß in den oben angedeuteten Vorgängen die Pilzinfektion vorliegt, daß die Pilze also am hinteren Eipol durch den Follikel hindurch ins Ei einwandern.

Nachdem nun aber von SULĀ und von BUCHNER zwei verschiedene Pilze als Symbionten der Psylliden beschrieben waren, war eine nähere Kenntnis des Infektionsvorganges recht erwünscht.

Die Infektion eines Eies durch zwei verschiedene Pilze ist bereits bekannt, BUCHNER beschreibt sie bei Cicaden. Hier infizieren beide Pilzarten gleichzeitig und in gleicher Weise, nur in quantitativer Hinsicht bestehen Unterschiede zwischen beiden. Ob bei Psylliden ebenfalls eine solche Mischinfektion statt hat, oder ob nicht doch getrennt infiziert wird, das war die Frage; auch wie die beiden Pilze aus dem Mycetom heraus zur Infektionsstelle gelangen

würden, versprach interessante Ergebnisse. Leider haben sich meine Erwartungen nicht ganz erfüllt.

Zur Untersuchung benutzte ich eine auf der Esche lebende Psyllide, wohl *Psylla fraxinicola*.

Bezüglich der Mycetome kann ich den Angaben der früheren Untersucher wenig hinzufügen. Zu erwähnen ist, daß in meinen Präparaten — ich untersuchte nur geschlechtsreife Tiere — das Syncytium in sehr klarer und schöner Weise die schmalen, langen Schläuche der kleineren Pilzart zeigte (Fig. 38), während bei BUCHNER, dem nur Larven vorlagen, diese inneren Partien des Mycetoms zu einem fast unentwirrbaren, dichten Geflecht der kleinen Pilzschläuche zusammengedrängt waren. Es hängt dies vielleicht mit räumlichen Unterschieden in der Larve und im Imago zusammen. Denn während bei den Larven das Syncytium von den die größere Pilzart beherbergenden Zellen rings umschlossen ist und nur die zentrale Partie des Mycetoms bildet, ist bei meinen erwachsenen Tieren die periphere Grenzschrift gesprengt, das Syncytium reicht stellenweise bis zur Oberfläche des Mycetoms, während andererseits die Zellen mit den großen Pilzen in das Innere eindringen und ein Unterscheiden zwischen zentralen und peripheren Mycetompartien unmöglich machen.

Unter den Zellen mit den größeren Pilzen, wie sie Fig. 39 andeutet, zeichnen sich Zellen mit deutlicher Membran aus, in denen die Pilze viel lockerer liegen (Fig. 40, 41). Infolgedessen kann man bei ihnen auch die Plasmamaschen sehr deutlich unterscheiden, in denen die einzelnen Pilze liegen, die hier auch größer erscheinen als in den anderen Zellen, in denen sie aufs dichteste gedrängt — viel dichter als ich es mit meiner Zeichnung ausdrücken konnte — und verschlungen sich viel schwerer sondern lassen. Zwischen beiderartigen Zellen finden sich alle Übergänge, und die gegebenen Figuren mögen nur die Endglieder dieser Reihe charakterisieren. Die Kerne zeigen keine wesentlichen Unterschiede, sie sind bei beiden chromatinreich und mehr oder weniger unregelmäßig geformt. Die Zellen mit deutlich locker geordneten Pilzen liegen nie im Innern des Mycetoms, sondern stets an der Peripherie, sehr häufig liegen sie dem Organ gleichsam flach an oder erscheinen ihm angedrückt. Ich werde auf deren Bedeutung noch zu sprechen kommen.

Vorher aber seien noch eigentümliche Gebilde erwähnt, wie sie Fig. 42 zeigt, die ganz regelmäßig vorkommen und fast auf jedem Schnitt zu mehreren zu finden sind. Es sind meist runde Gebilde

von wechselnder Größe, gewöhnlich einzeln, aber auch zu mehreren in deutlicher Vacuole des Grundplasmas, sehr leicht unterscheidbar von den übrigen Bewohnern des Pilzorgans. Häufig sind an ihnen nahtartige Linien zu erkennen, die unter einem Winkel von  $120^\circ$  zusammenstoßen und wohl zu einem Zerfall führen, der etwas verschieden ist von dem auf Fig. 43b beschriebenen, wo der Vorgang mehr den Charakter einer Sprossenbildung zeigt. Überwiegend kommen diese Gebilde in den Zellen mit den größeren Pilzen vor, ganz vereinzelt fand ich sie aber auch im Syncytium mit den kleinen Pilzen. Auch außerhalb des Organs fanden sie sich in Gesellschaft der großen Pilze in Zellen, von denen noch gesprochen werden soll. Ob diese Körper zum Cyclus des großen Pilzes gehören, kann ich nicht mit Sicherheit sagen; ich möchte es aber annehmen. Immerhin ist bei dieser Deutung das wenn auch nur ganz vereinzelt Vorkommen im Syncytium bei den kleinen Pilzen auffällig, da doch sonst die Trennung beider Pilzformen im Organ aufs schärfste durchgeführt ist.

Ich erwähnte vorhin, daß in dem Mycetom die Zellen mit den größeren Pilzen sich so in eine Übergangsreihe anordnen lassen, daß das eine Endglied der Reihe von Zellen gebildet wird, die dem Mycetom mehr oder weniger flach anliegen, und in denen die vergrößerten Pilze locker im Zellplasma verteilt sind. Aus diesen Zellen verlassen die Pilze das Mycetom und treten in die Körperhöhle über. Fig. 41 zeigt einen Pilz im Augenblick des Ausschlüpfens. Ich hätte erheblich mehr Abbildungen dieser Art geben können, doch läßt die Zeichnung eines einzelnen Schnittes ja doch immer die Möglichkeit offen, daß es sich um ein künstliches Zerreißen der Zelle handelt und erst mit Berücksichtigung der benachbarten Schnitte kann man unter Umständen die Möglichkeit solcher Kunstprodukte ausschließen. Ich begnüge mich daher, in Fig. 44 nur noch einzelne Pilze nächst dem Mycetom abzubilden. Sicher ist jedenfalls, daß diese Zellen die Pilze in dem Zustand enthalten, wie sie das Mycetom verlassen. Daß die Zelle als Ganzes sich aus dem Mycetom löse, halte ich für nicht wahrscheinlich.

Das Größerwerden der Pilze vor Verlassen des Pilzorgans und ihre lockere Anordnung in plasmareicheren Zellen findet ein Analogon bei der von BUCHNER beschriebenen *Cicada orni*. Doch läßt sich die Parallele nicht weit verfolgen, denn bei der Cicade kommt es vor der Loslösung noch zu einer regen Vermehrungstätigkeit, die zu nesterartigen Pilzgruppen führt, von denen bei der Psyllide nicht die Rede sein kann. Geeigneter zum Vergleich sind aber die von

PIERANTONI bei *Icerya purchasi* und *Pseudococcus citri* geschilderten Verhältnisse, bei denen die zur Infektion das Mycetom verlassenden Pilze bzw. Pilzgruppen ebenfalls anwachsen und stärkere Verwandtschaft zu den Farbstoffen annehmen.

Zur Beantwortung der Frage, wie die feinen Schläuche des Syncytiums, die zweite Pilzform, das Organ verläßt, fehlt mir jede Unterlage; doch glaube ich kaum zweifeln zu können, daß diese Pilze direkt austreten können. Es sei daran erinnert; daß bei den Larven das Syncytium mit den kleinen Pilzen im Innern des Pilzorgans eingeschlossen war, bei den erwachsenen, geschlechtsreifen Tieren aber vielfach die Peripherie des Organs direkt erreicht.

Auf dem Wege von dem Pilzorgan zum Eifollikel treffen wir die Pilze, ganz allgemein von allen Formen gilt dies, recht selten an. Meistens ist der Weg ja auch nur kurz, da die Pilzorgane den Ovarien dicht benachbart sind. So habe ich denn auch bei den Psylliden nur selten die Pilze frei in der Leibeshöhle auffinden können. Fig. 45 gibt ein Bild davon. In der Zeichnung kann es nicht so deutlich und einwandfrei wie im Mikroskop bei verschiedener Einstellung der Mikrometerschraube zur Erscheinung kommen, daß wir hier tatsächlich zwei recht verschiedene Gebilde vor uns haben. Die dunklen, etwas geknickten, langen Pilze schließen sich zwanglos an die Form an, die wir das Mycetom verlassen sahen und wir beim Eindringen ins Ei und im Ei selbst wiederfinden werden (Fig. 41, 44, 46—50). Bezüglich der drei kleinen blassen Formen können wir die Herkunft nicht mit Sicherheit sagen. Mit aller Bestimmtheit aber sind sie von den dunklen, länglichen verschieden und sind, wie sich mit Sicherheit konstatieren läßt, nicht etwa nur quer getroffene Anschnitte dieser Formen. Bei der Infektion — ich möchte das gleich vorwegnehmen — finden wir dieselben Verhältnisse, wenn auch nicht immer mit gleicher Deutlichkeit: Neben dunkel gefärbten Körpern blasse, runde. Gewöhnlich liegen die Pilze dicht gedrängt wirt durcheinander, in allen möglichen Ebenen getroffen und infolgedessen auch die verschiedensten Schnittbilder gebend, wovon Fig. 46 eine Andeutung geben soll. Bisweilen aber gelingt es auch hier mit aller Bestimmtheit festzustellen, daß die blassen Kreise keine Anschnitte sondern differente, selbständige Körperchen sind, wie z. B. auf Fig. 47 rechts unten die beiden blassen Pilze außerhalb des Follikels, oder Fig. 48 einge Pilze bei der Infektion, nach Durchtritt durch den Follikel und beim Eintritt ins Ei.

Ich glaube somit, der Nachweis der geforderten Doppelinfection ist wenigstens mit größter Wahrscheinlichkeit geliefert. Da sich

die Reihe der größeren Pilzform vom Pilzorgan bis ins Ei glatt verfolgen läßt, muß man annehmen, daß die blassen, kleinen Formen der Reihe der kleinen Pilze, die im Syncytium leben, angehören müssen. Wann und wo aber diese ihre Schlauchform verlieren und Kugelgestalt annehmen, das bleibt eine offene Frage.

Man könnte nun vielleicht noch annehmen, daß die kleinen Pilze nur besondere Lebensformen der großen seien; den strikten Beweis ihrer Selbständigkeit könnte natürlich nur ihre getrennte Reinkultur erbringen. Aber ihre Unabhängigkeit voneinander wird doch zum mindesten höchst wahrscheinlich gemacht, einmal durch das Fehlen von Übergangsformen, durch die große morphologische Konstanz in der Verschiedenart beider Pilzarten — die verschiedenen Erscheinungsformen des großen Pilzes in den dichter und lockerer bewohnten Zellen sind im Prinzip doch die gleichen und differieren nur in den Ausmaßen — und ferner durch die streng durchgeführte Trennung in recht verschiedenartig ausgebildeten Partien des Mycetoms.

Einige Male fand ich die größeren Pilze nicht frei in der Körperhöhle, sondern in ziemlich stark vacuolisierten Zellen (Fig. 43a,b), genau so wie sie auch PIERANTONI bei *Icerya purchasi* beschreibt. PIERANTONI nimmt an, daß es sich dabei um Phagocytose handle, die die Zahl der zur Infektion gelangenden Pilze reguliere. Diese Erklärung ist sehr bestechend, zumal PIERANTONI freie Pilze in großer Zahl fand. Doch ob diese Erklärung auch bei der Psyllide angewendet werden darf, scheint mir doch zweifelhaft. Abgesehen davon, daß bei der Psyllide — wie auch sonst in der Regel — freie Pilze nur selten gefunden werden, spricht die Vermehrungsform der Fig. 43a nicht gerade für Phagocytose. Daß diese Zellen nur dem Transport der Pilze zum Ei dienen sollte, ist auch nicht anzunehmen, da der Transport auch ohne Zellen möglich ist und auch erfolgt. An der Infektionsstelle habe ich niemals solche Zellen gefunden, wohl aber freie Pilze.

Das Psyllidenei ist am oberen Pol spitzer, am unteren breiter und einseitig ein wenig vorgewölbt. Hier setzt sich das Follikel-epithel strangförmig fort und hier ist die Stelle, an der die Infektion des Eies vollzogen wird. Wenn das Ei etwa die Hälfte seiner endgültigen Größe erreicht hat, dringen die Pilze einzeln in den Follikel ein, dessen Zellen hierdurch kaum verändert werden. Sie stauen sich hier nicht an, sondern durchdringen schnell den Follikel und sammeln sich in den Hohlraum an, der dadurch entsteht, daß das Eiplasma nicht bis in den Zipfel des sich als Strang fortsetzenden

Follikels vordringt. Scharfe Grenzen sind nicht gegeben, wie Fig. 47 zeigt. Die Hauptmasse der Pilze liegt in dem Hohlraum, einzelne liegen noch im Follikel oder sogar noch außerhalb desselben, einige wenige sind aber schon bis in das Keimhautblastem vorgedrungen. Fig. 49 zeigt ähnliche Verhältnisse im Querschnitt des Hohlraums. Auf Fig. 50 haben sich die Pilze schon in Kugelform gesammelt und mit einer zarten Membran umgeben, und in Gestalt dieser Pilzkugel dringen sie dann weiter ins Ei vor, aber immer im Plasma bleibend und durch eine wenn auch schmale Plasmaschicht vom Dotter getrennt (Fig. 46). Ist die Pilzkugel im Ei, wird das Chorion abgeschieden und an der Eindringungsstelle das „Eistielchen“ gebildet, das im Gegensatz zu den Aleurodiden lang ausgestreckt bleibt und dem Ei seitlich verschoben ansitzt. An der Basis des Stielchens, im Ei, befindet sich die Pilzkugel. Vom Beginn der Infektion bis zu dieser Ruhelage der Pilze scheinen die Vorgänge sich sehr schnell abzuspielen, denn in ganz überwiegender Zahl finden sich Bilder der letzten Art, sehr viel seltener sind Bilder des Eindringens, und die Zwischenstadien fehlen fast ganz.

Die erste Reifeteilung findet noch in der Mutter statt, die zweite scheint erst nach Ablage des Eies zu erfolgen, doch sind darüber ebenso wie über das weitere Schicksal der Pilze nach Beginn der Embryonalentwicklung keine Beobachtungen angestellt.

---

### Literaturverzeichnis.

- BUCHNER, P.: Studien an intracellulären Symbionten. Arch. f. Protistenk. Bd. 26 1912. Hier ist die einschlägige frühere Literatur angegeben. Außerdem  
 —: Zur Kenntnis der Aleurodossymbionten. Sitz.-Ber. d. Ges. f. Morph. u. Physiol. München 1912.  
 —: Neue Erfahrungen über intracelluläre Symbionten bei Insekten. Naturwiss. Wochenschr. Bd. 12 bzw. 28 1913.  
 HIRSCHLER, J.: Embryologische Untersuchungen an Aphiden usw. Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. 100 1912.  
 PIERANTONI, UMB.: Studi sulla sviluppo d'„Icerya Purchasi“ MASK. Arch. zool. Vol. 5 1912.  
 —: Struttura ed evoluzione dell'organo simbiotico di *Pseudococcus citri* Risso e ciclo biologico del *Coccydomyces dactylopii* BUCHNER. Arch. f. Protistenk. Bd. 31 1913.  
 STEVENS, N. M.: A study of the germ cells of *Aphis rosae* and *Aphis oenotherae*. Journ. exper. Zool. Vol. 2 1905.  
 TANNREUTHER: History of the germ cells and early embryology of certain Aphids. Zool. Jahrb., Abt. Anat., Bd. 24 1907.
-

### Tafelerklärung.

Alle Zeichnungen mit Zeichenapparat auf Objekttischhöhe. Obj. ZEISS Apochr.  
Imm. 2 mm. Comp.-Oc.

#### Tafel 20.

*Aspidiotus hederæ* SIGN.

Fig. 3—6 mit Oc. 4, alle anderen mit Oc. 8.

- Fig. 1 u. 2. Infektion des Eies.
- Fig. 3—6. Pilze während der Embryonalentwicklung.
- Fig. 7—14. Pilze im mütterlichen Fettgewebe.
- Fig. 15. Pilze bei der Infektion.
- Fig. 16—26. Pilze im Embryo.

#### Tafel 21.

*Lecanium*-Art, *Psyllide*.

Fig. 27, 32, 33 mit Oc. 4, Fig. 28—31, 34—37 mit Oc. 8, Fig. 39—50 mit Oc. 12.

- Fig. 27—28. *Lecanium*. Infektion des Eies.
  - Fig. 29—33. " Pilze während der Embryonalentwicklung.
  - Fig. 34—37. " Pilze im mütterlichen Fettgewebe.
  - Fig. 38—42. *Psyllide*. Pilze im Mycetom.
  - Fig. 43—45. " Pilze nach Verlassen des Mycetoms vor der Infektion
  - Fig. 46—50. " Pilze bei der Infektion.
-

Nachdruck verboten.  
Übersetzungsrecht vorbehalten.

## Sur quelques Tentaculifères muscicoles.

Par  
E. Penard.

(Avec 19 figures dans le texte.)

Dans un travail remontant à l'année 1888, GREEFF <sup>1)</sup> a décrit, malheureusement dans un style un peu laconique, et sans accompagnement de figures, toute une série d'Infusoires „terrestres“, et parmi ceux-ci un Tentaculifère, la *Sphaerophrya parva*.

Depuis lors, aucun Acinétiien ne semble avoir été mentionné comme affectant cet habitat particulier, et COLLIN <sup>2)</sup>, en s'occupant de la répartition oecologique de ces êtres, pouvait dire en 1912: „Quant à l'espèce unique: *Sphaerophrya parva*, rencontrée (en un seul exemplaire du reste) parmi les mousses humides (GREEFF 1888) il me paraît exagéré d'en faire avec cet auteur un représentant de la „faune terrestre“ (Binnenlandfauna), d'autant plus que son autonomie comme forme spécifique est peut-être discutable et que rien n'indique qu'il ne s'agisse d'un kyste apporté par le vent, s'ouvrant là par hasard. La prétendue espèce ne semble présenter d'ailleurs aucune adaptation spéciale au milieu qu'on lui assigne, comme le montrent par exemple *Amoeba terricola* ou divers autres Rhizopodes.“

Et pourtant, cette faune terrestre, ou plutôt muscicole, existe. On trouve dans les mousses, non-seulement une *Sphaerophrya* que je suppose être celle de GREEFF, mais encore toute une petite série d'espèces, dont quelques-unes au moins montrent une adaption très-

<sup>1)</sup> Sitz.-Ber. d. Ges. z. Bef. d. ges. Naturwiss. Marburg 1888.

<sup>2)</sup> Arch. de Zool. expér. T. 51 fasc. 1 p. 296 1912.



nette à des conditions d'existence toutes particulières; si bien même qu'on ne se résout à les faire rentrer dans des genres connus qu'avec l'arrière-pensée qu'il eût été préférable d'en créer de nouveaux.

Ces Tentaculifères muscicoles sont souvent très petits, et toujours très-rares; à les étudier pour eux seuls, on perd un temps considérable; tel jour un individu se montrera, et des semaines pourront s'écouler avant qu'il s'en présente un nouveau; et pour réduire au minimum le temps nécessairement perdu, le mieux est d'étudier tout au long quelque autre groupe animal, et de profiter du hasard de la rencontre pour s'occuper incidemment de ces organismes spéciaux.

Dans ces cinq ou six dernières années, et au cours de mes études sur les Rhizopodes, il m'est arrivé de temps à autre de rencontrer inopinément un Tentaculifère avec ses longs bras déployés, entr'autres cette *Sphaerophrya* de GREEFF dont je n'ai malheureusement fait que noter la présence en passant; mais ce n'est qu'en 1913, pendant mes recherches sur les *Cothurnia* bryophiles, que je me résolus à observer les Acinéliens d'une manière sérieuse, à prendre des notes et des croquis. Tout récemment enfin, en Janvier 1914, trois semaines d'étude exclusivement consacrées à ces organismes m'ont permis de contrôler quelques-uns des faits précédemment observés.

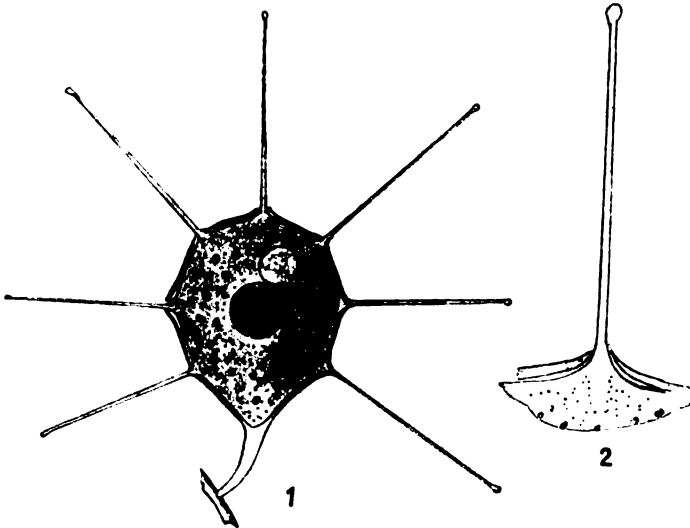
Tous les Tentaculifères dont il est ici question ont été trouvés dans les mousses; mais était-ce là leur habitat normal? pour certains d'entre eux, *Solenophrya micraster*, *Sol. flavescens*, *Sol. massula*, on peut répondre, je crois, hardiment par l'affirmative; ces trois espèces sont caractéristiques des mousses qui revêtent les troncs d'arbres ou les vieux murs, brûlés en été par le soleil, sèches presque en toute saison, tout juste humectées incidemment de rosée ou de pluie. *Solenophrya sacculus*, *Tokophrya muscicola*, sont très-probablement muscicoles encore, mais avaient élu domicile sur des troncs déjà moins secs, au voisinage de l'eau; la petite forme indiquée comme se rapportant à *Metacineta mystacina* s'est trouvée dans une tourbière, où la mousse est généralement humide; et quant à cette curieuse *Acineta* qui se rapproche si fort de *A. papillifera* marine, que je n'ose l'en séparer, l'unique exemplaire observé se trouvait tout au bas d'un chêne, au bord d'un fossé que j'ai toujours vu à sec, mais que les pluies doivent cependant, de temps à autre, remplir au moins d'un peu d'eau.

#### *Tokophrya muscicola* sp. nov.

Dans cette espèce, le corps, dont la taille varie presque toujours entre 23 et 30  $\mu$ , peut être considéré comme revêtant en principe

une forme à peu près arrondie, mais se voit en réalité toujours plus ou moins étiré vers le bas, vers son point de fixation, et devient par là ovoïde ou pyriforme. Légèrement comprimé sur ses côtés, il montre en coupe transversale un contour ellitique.

A première vue, on le croirait nu, ou plutôt on ne lui donnerait que la pellicule normale qui borne partout le corps chez les Tentaculifères, mais sur un examen plus attentif, on finit par reconnaître une véritable membrane d'enveloppe, incolore, très-réfringente et qui se détache en noir sur son bord. Cette membrane spéciale adhère alors parfaitement à l'animal, dont elle semble faire partie intégrante. Vers le bas, elle s'étire quelque peu, s'effile en un pédoncule presque



*Tokophrya muscicola.*

Fig. 1. Individu fixé à une parcelle d'écorce. — Fig. 2. Tentacule, et membrane.

toujours très-court, de 5 à 6  $\mu$  en général, mais qui peut, dans des occasions très-rares, arriver à 20 et 25  $\mu$ . Ce pédoncule, dans lequel le plasma ne pénètre pas, est tubuleux, légèrement conique et rétréci vers le bas, généralement un peu recourbé, et se voit attaché au soutien (surtout fibrilles végétales ou parcelles d'écorce en décomposition) sans s'y étaler en disque de fixation.

Quand l'animal est à jeun, ce petit organisme se présente comme une masse opalescente ou bleuâtre faiblement granulée. Plus souvent, on y voit une quantité plus ou moins grande de grains jaunâtres et quelquefois rougeâtres, ou bien de petites particules encore vertes qui semblent être des parcelles de nourriture amenées jusque là.

Le noyau, grand, ellipsoïdal<sup>1)</sup>, tout rempli de petits grains, est central; et tout près de lui, juste au-dessus, se trouve une belle vésicule contractile.

Les tentacules, relativement très-épais mais courts, et ne dépassant guère 13 à 15  $\mu$ , sont au nombre d'une vingtaine, répartis d'une manière à peu près symétrique sur toute la surface du corps, laissant libre cependant la région inférieure, au voisinage de la tige. Ils sont renflés en large tête sphérique à leur sommet, et à leur base ils s'élargissent sur le point où on les voit percer l'enveloppe. Cette dernière, sur ces mêmes points, est elle-même repoussée un peu vers l'extérieur, et par là se présente dans son contour général comme vaguement anguleuse ou polygonale.

Cette espèce, qui serait peut-être assez proche voisine de *Tokophrya inclinata* KELLICOTT, mais me semble cependant revêtir des caractères spécifiques nettement distincts, s'est rencontrée en une certaine abondance, en Mars et Avril 1913, dans la mousse qui garnissait un tronc de saule au bord d'un ruisseau, à Troinex près de Genève.<sup>2)</sup> Peut-être serait-il imprudent de l'envisager comme strictement muscicole, mais pourtant, ce Tentaculifère qui rappellerait une forme sans enveloppe *sensu stricto* mais couverte d'une sorte de vernis tenace destiné à lui donner plus de résistance au dessèchement, semble indiquer une adaptation à des circonstances particulières, et probablement ne sera-ce que dans les mousses qu'on le retrouvera.

### ? *Acineta papillifera* KEPPEN.<sup>3)</sup>

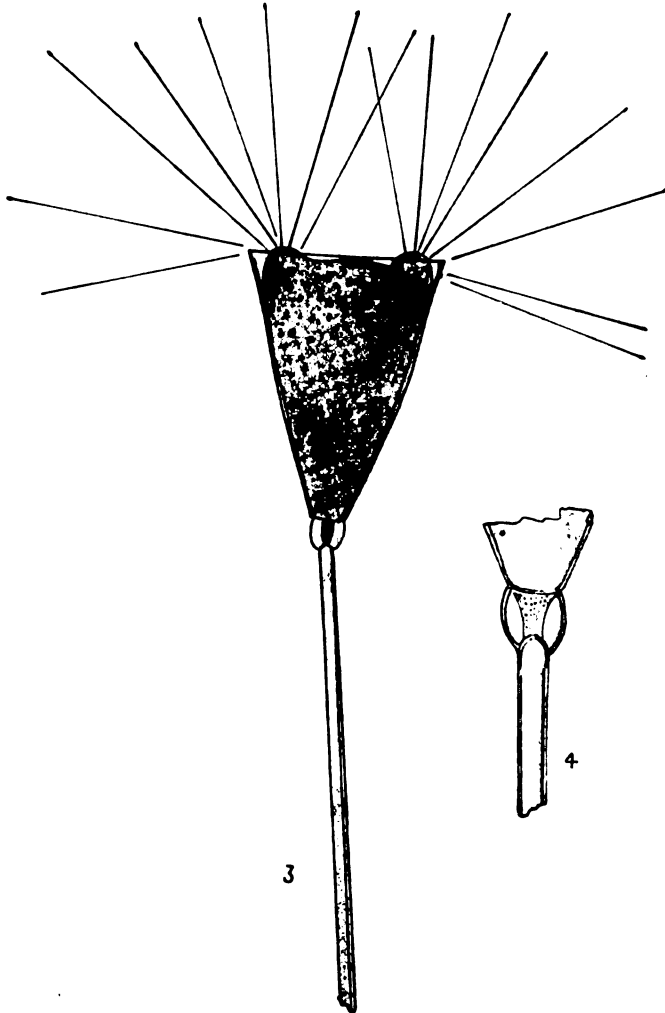
En fouillant, le 25 Avril 1913, une touffe de mousse prise à la base d'un chêne, à Bougeries, mon regard vint à s'arrêter tout-à-coup sur un faisceau compact de puissants tentacules; puis un second faisceau se montra, et enfin apparut clairement un magnifique Tentaculifère, véritable géant comparativement aux organismes muscicoles que j'étais habitué à rapporter de cette station. L'animal était malheureusement engagé dans un fouillis de filaments cryptogamiques

<sup>1)</sup>Dans les divers Tentaculifères que j'ai pu observer, il m'a semblé reconnaître que le noyau peut toujours être considéré comme revêtant la forme d'un sphéroïde plus ou moins aplati aux pôles; suivant la manière dont il se présente, on le verra alors soit arrondi soit elliptique.

<sup>2)</sup> Je l'ai retrouvée, nettement caractéristique, dans deux autres stations au moins, dont l'une est presque certainement la tourbière de Châtel (canton de Fribourg); mais, très-occupé d'autre part, j'avais alors négligé de prendre des notes, et ma mémoire se trouve hésitante aujourd'hui.

<sup>3)</sup> Mém. Soc. Nat. Odessa Vol. 13 p. 1 à 75 1888.

et de débris, qui cachait le noyau, la vésicule contractile, et la terminaison basale du pied; par contre, toute la partie antérieure, l'enveloppe dans sa forme exacte, le coussinet de flexion caractéristique, la tige dans presque toute sa longueur, tout cela se montrait fort net.



*Acineta papillifera.*

Fig. 3. L'animal vu de face. — Fig. 4. Détails de l'appareil de fléchissement.

L'enveloppe, absolument incolore et d'une transparence extrême, a la forme exacte d'un large pain de sucre renversé, mais en même temps elle est comprimée sur ses côtés, et sa coupe transversale

donnerait une figure elliptique ou peut-être même fusiforme.<sup>1)</sup> Le bord supérieur de cette enveloppe — ou de cette loge — dessine une ligne parfaitement droite, comme tirée à la règle; les deux bords latéraux, par contre, sont un peu arqués, mais leur courbe, très-belle et régulière, est si peu sensible que tout d'abord j'avais vu là deux lignes droites.

Cette enveloppe conique, qui mesure à elle seule environ 150  $\mu$  de longueur, est fixée par sa partie rétrécie à une tige, parfaitement transparente elle-même, de 12  $\mu$  environ de largeur pour 160  $\mu$  de longueur, creuse suivant toute apparence, et parfaitement droite, si bien qu'on pourrait la prendre, *mutatis mutandis*, pour un tube de verre égaré là dans la mousse. Mais entre cette tige et la terminaison brusquement tronquée de la loge, se montrait avec toute la netteté désirable un appareil très-spécial, qui me parut revêtir les fonctions de charnière, et dans lequel, mieux informé, je reconnus en effet plus tard l'appareil de fléchissement caractéristique de l'*Acineta papillifera* (COLLIN, l. c. p. 340):

Entre le fond de la loge et le sommet de la tige, on voyait une bande d'un gris mat, qui paraissait vaguement striée dans sa longueur, sorte de ligament rattaché à la loge par sa partie supérieure élargie, et fixé par sa partie inférieure, un peu rétrécie, à l'extrémité légèrement arrondie, et en apparence fermée, de la tige. En outre, une sorte de bulbe creux, ou renflement annulaire nettement dessiné, réunissait tige et logette, comme un bourrelet de protection pour la bande grise centrale (fig. 4).

C'est bien là l'appareil de fléchissement décrit par KEPPEM, puis ensuite par MARTIN,<sup>2)</sup> dans *Acineta papillifera*. D'après le premier de ces auteurs, il n'y aurait pas, il est vrai, une simple bande grise (faisceau squelettique ou fibrillaire), mais deux papilles opposées l'une à l'autre; mais COLLIN (l. c. p. 116) regarde comme vraisemblable que „sur l'animal très-jeune, le style et la loge sont d'une seule venue et les fibrilles du faisceau squelettique se continuent de l'un à l'autre, sans aucune trace d'interruption“; et l'exemplaire que j'ai eu sous les yeux, probablement jeune, confirmerait, quant au faisceau gris tout au moins, cette manière de voir.

<sup>1)</sup> C'est là un point que les circonstances ne m'ont pas permis de préciser, car l'animal n'ayant pu être examiné que par sa face large, ce n'est que par le jeu d'abaissement et de relèvement de l'objectif que j'ai pu me rendre compte de la compression approximative.

<sup>2)</sup> Quart. Journ. of Micr. Sci. Vol. 53 1909.

Quant au corps proprement dit, on n'en voyait que la partie antérieure, et il ne m'a pas été possible de l'étudier; mais il est intéressant de constater que là encore on trouvait en quantité considérable ces grains d'une brun doré que l'on a décrits comme caractéristiques de l'*Acineta papillifera* (COLLIN p. 268).

L'ectoplasme avec sa cuticule se détachait franchement de la loge, et de chaque côté on le voyait relevé en une proéminence d'où partait un faisceau de tentacules puissants, droits, de  $2\ \mu$  d'épaisseur, terminés par une tête sphérique de  $5\ \mu$ , dans l'intérieur de laquelle se dessinait un petit cercle qui semblait indiquer un évidement.

Ce bel Acinée ne s'est rencontré qu'une seule fois, malgré des visites nombreuses à la localité première; et cet individu unique, j'ai fini par le perdre en voulant le retirer des débris.

C'est comme *Acineta papillifera* que j'ai cru devoir l'indiquer; il lui ressemble en tout cas d'une manière étonnante, et s'éloigne d'assez loin de l'*Acineta compressa* CLAP. et LACHM., avec sa loge d'une forme toute différente, ou de l'*A. cucullus* des mêmes auteurs avec sa forte échancrure, sa tige longue et fine, etc., deux espèces d'eau salée ou saumâtre, tout comme l'*A. papillifera* a toujours passé pour l'être également.

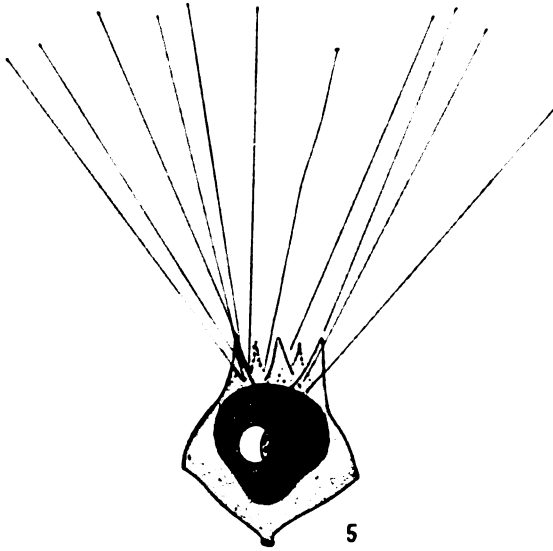
Mais alors, cet exemplaire unique, que venait-il faire là, sur un tronc de chêne, au bord d'un fossé que je n'ai jamais vu autrement qu'à sec? <sup>1)</sup>

### ? *Metacineta mystacina* (EHRENBERG).

J'ai trouvé à la tourbière de Châtel (canton de Fribourg), dans une mousse humide, quelques rares exemplaires d'un Tentaculifère qui me semble devoir être rapporté à cette espèce. C'était une petite forme, cependant, variant entre 28 et 31  $\mu$  en diamètre, et atteignant de 40 à 45  $\mu$  en hauteur, du point basal de fixation jusqu'au sommet des lobes aigus qui couronnent l'enveloppe.

Ces lobes semblent circonscrire une vaste ouverture étoilée, mais on sait aujourd'hui qu'ils ne représentent, en fait, que des replis de

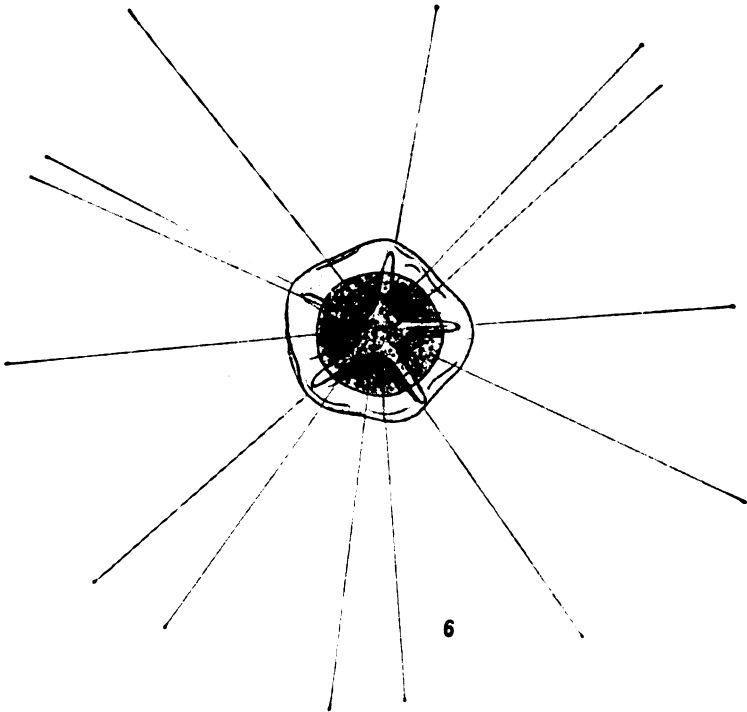
<sup>1)</sup> On pourrait supposer que cet exemplaire provenait de l'eau du lavage, et en définitive du Léman, qui fournit les conduites de la ville; mais dans cette même eau, que j'utilise presque journallement depuis vingt années, je n'ai jamais trouvé autre chose que quelques petites Diatomées rondes ou Péridiniacées. L'*Acineta elegans* d'IMHOFF a été récoltée dans le Léman sur divers Entomostracés; mais elle est complètement différente (voir ANDRÉ, catalogue des Invertébrés de la Suisse. Infusoires. 1912 p. 199).



5

? *Metacineta mystacina*. Fig. 5. L'animal vu de côté.

l'enveloppe, incolore, très-délicate, éminemment déformable; et dans les deux individus qu'il m'a été possible d'examiner dans des conditions favorables, on voyait tous les pseudopodes, très-fins et très-longs dans cette espèce, partir d'une même région centrale. Les uns, alors, suivaient dans leur course les rayons, c. a. d. restaient quelque temps logés dans



6

*Metacineta mystacina*. Fig. 6. Un autre, vu par la face orale.

l'enfoncement des replis, les autres, plus nombreux, suivaient une direction quelconque sans s'inquiéter de l'étoilement (fig. 6).

Dans ces deux individus, comme aussi dans un troisième qui se présentait par le côté et où le nombre des lobes pouvait être compté, ce nombre était de cinq.

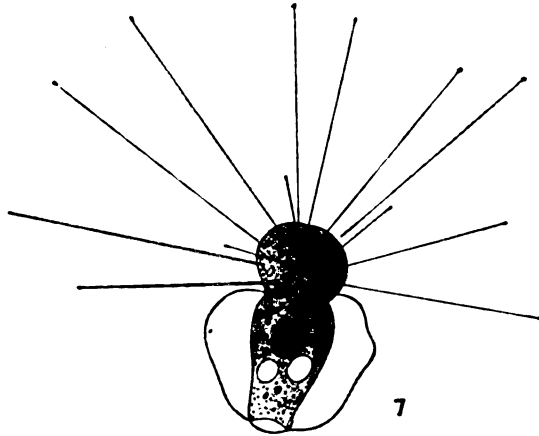
La partie basale de l'enveloppe se rétrécissait en un pédoncule très-court, presque nul même parfois, et qui ne représentait qu'un prolongement creux de la logette elle-même (fig. 5).

Le corps ne remplissait qu'une partie de l'enveloppe, dans laquelle il semblait être suspendu, et montrait un gros noyau central, granuleux; tout près, fonctionnait une grande vésicule contractile.

### *Solenophrya sacculus* sp. nov.

Le 22 April 1913, apparut dans un lavage de mousses provenant d'un tronc d'arbre à Troinex, un petit Tentaculifère dont l'enveloppe, de 30  $\mu$  de diamètre, incolore et fine, dépourvue de pédoncule, en

forme de bourse ou de sac sans forme bien précise mais se rapprochant d'un sphéroïde, renfermait un individu en cours de division, séparé par un étranglement en deux parties à peu près égales, dont l'une, restée à l'intérieur, était soudée par sa base au fond de la loge, et l'autre se projetait au dehors



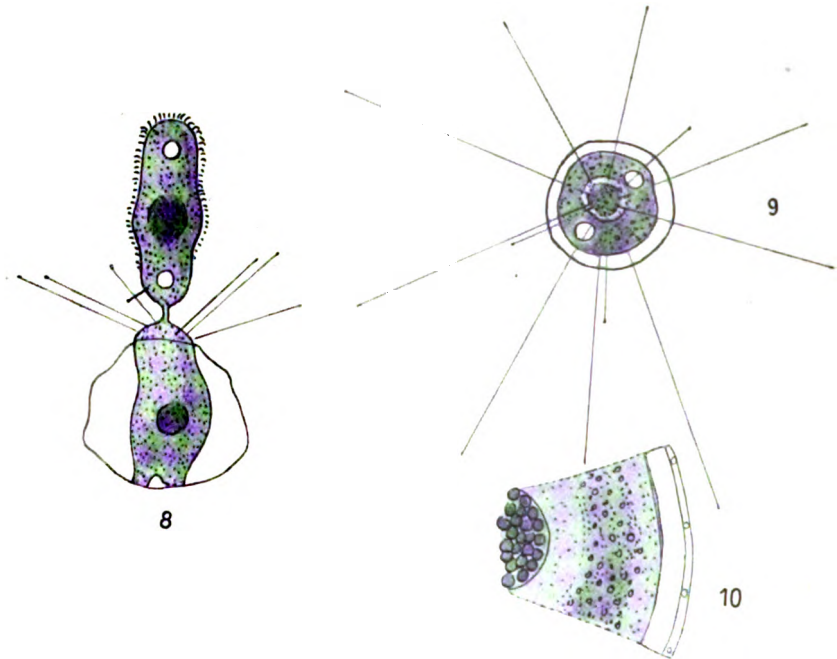
*Solenophrya sacculus*. Fig. 7. Division.

sous forme d'une sphérule couverte de tentacules nombreux. L'individu resté dans la loge montrait un gros noyau central, et, tout près, deux vésicules contractiles; quant à l'autre, je n'y pus rien distinguer (fig. 7).

Tout cela se passait à 2 heures de l'après-midi. A ce moment, j'isolai l'animal sur une lamelle évidée. A 2 h  $\frac{3}{4}$ , il était à peu près le même; mais à 3 h 20, les choses avaient bien changé: la division était presque achevée, et l'on voyait le jeune individu, allongé, tout prêt à se détacher, relié au parent par un simple pont



déjà très-étroit (fig. 8). Cet embryon était couvert de cils, du moins sur les deux tiers de sa longueur et surtout à la partie antérieure, où ils se montraient plus forts, plus serrés, et battaient plus vivement. Au centre, on voyait un gros noyau rond, et près de chacune des extrémités battait une vésicule contractile. Quant au parent, sa partie antérieure dessinait une convexité sur l'ouverture de la loge, et portait déjà des tentacules vigoureux.



*Solenophrya sacculus.*

Fig. 8. Division presque achevée. — Fig. 9. Le jeune individu après construction de l'enveloppe. — Fig. 10. Coupe partielle à travers l'enveloppe et le plasma.

A 3 h 25, le pont se rompit, l'embryon se détacha, et se mit à courir; il s'allongea bientôt plus encore, prit la forme d'un cylindre ou plutôt d'une lame épaisse, par suite d'un aplatissement bilatéral qu'il conserva jusqu'à la fin, et courut deux heures entières, avec une vésicule contractile tout près de chacune de ses extrémités, en se dandinant et tournant sur son long axe. En arrière il semblait qu'il y eût quelque chose, une petite „queue“ qui trainait, et probablement était-ce là un tentacule très-court, qui, en fait, s'était formé déjà quelques minutes avant la séparation du parent, et que j'avais vu bien net à ce moment.

A 6 h  $\frac{1}{4}$ , tout d'un coup l'animal s'arrêta net, se posa, et des tentacules poussèrent rapidement en arrière, en même temps que les cils continuaient à battre faiblement à la partie antérieure. A 6 h 25, l'animal s'était arrondi, et c'était déjà une véritable petite Acinée, tout juste avec quelques derniers cils en cours de résorption.

Abandonné pour un temps, puis revu à 8 h 05, le petit être était magnifique, avec des tentacules nombreux qui atteignaient jusqu'à trois fois la longueur du corps.

Le lendemain 23 Avril à 7 h  $\frac{1}{2}$ , le jeune animal, toujours très-beau, avec son noyau central, ses deux vésicules contractiles, et ses nombreux tentacules, montrait une enveloppe à moitié construite, une cupule délicate et incolore (fig. 9). A 11 heures c'était encore le même, mais la cupule était devenue un sac. L'enveloppe, en fait, était complète, et seul un orifice central permettait aux tentacules de se déployer au dehors. Les deux vésicules contractiles étaient en place, et battaient toutes les 80 secondes environ. Le 24 Avril au matin, c'était encore le même; vu en section transversale, l'animal montrait, du dehors au dedans: d'abord un membrane d'enveloppe (loge) incolore, puis un espace vide, une ligne noirâtre et réfringente indiquant la membrane propre du corps, une zone relativement claire, une zone à grains pâles, une nouvelle zone claire autour du noyau, et enfin ce gros noyau lui-même, rempli de granulations (fig. 10).

Le 25 Avril, l'animal était bien portant encore, largement déployé, et ne se distinguait de ce qu'il était la veille que par la présence de tout petits grains brillants, visibles sous un objectif à immersion, logés de distance en distance dans l'épaisseur de la membrane d'enveloppe, et qui semblaient y produire une sorte de réticulation. Mais peut-être étaient-ce là des microbes, empâtés dans la pellicule.

C'est là qu'en sont restées mes observations sur le jeune individu, qui se perdit dans la soirée du même jour. Quant au parent, dès le départ du jeune, au 22 Avril, il avait reformé des pseudopodes, et repris sa forme normale; mais le lendemain 23 Avril au soir, il se rétracta dans son enveloppe en une sphérule dans laquelle on voyait le dessin très-vague d'un noyau central, et toujours les deux vésicules contractiles fonctionnant encore, mais à intervalles très-éloignés.

Le 24 Avril, l'enveloppe de ce vieil individu se retrouva, mais vide; un peu plus tard, cependant, son contenu reparut à son tour, à quelque distance de la loge abandonnée. C'était un petit Tentaculifère absolument semblable à celui dont nous venons de suivre

l'évolution, et déjà muni lui aussi d'une enveloppe délicate. Le vieil individu avait donc à son tour abandonné sa logette pour s'en construire une autre plus loin.<sup>1)</sup>

Cette petite espèce ne s'est rencontrée qu'une seule fois et sous la forme d'un seul individu; mais comme la division a en pour effet de m'en fournir un second parfaitement identique au premier, les faits acquis permettent de conclure qu'il s'agit là d'une forme spécifique normale, qu'il ne m'a pas été possible de ramener à un type connu. Mais est-ce même bien là une *Solenophrya*? On pourrait y voir une *Metacineta* dépourvue en même temps de lobes et de pied, et en fait, le genre *Solenophrya* semble en somme n'être guère autre chose.

### *Solenophrya massula* sp. nov.

Capsule fermée de toutes parts, jaunâtre, chitinoïde, rigide et recouverte de particules siliceuses plates, de provenance étrangère. Dans sa forme générale, elle est vaguement hémisphérique, légèrement aplatie à sa partie inférieure, et ses contours sont inégaux. Tentacules deux ou trois fois aussi longs que l'enveloppe, se faisant jour au dehors sous forme de deux faisceaux opposés. Une vésicule contractile. Noyau?

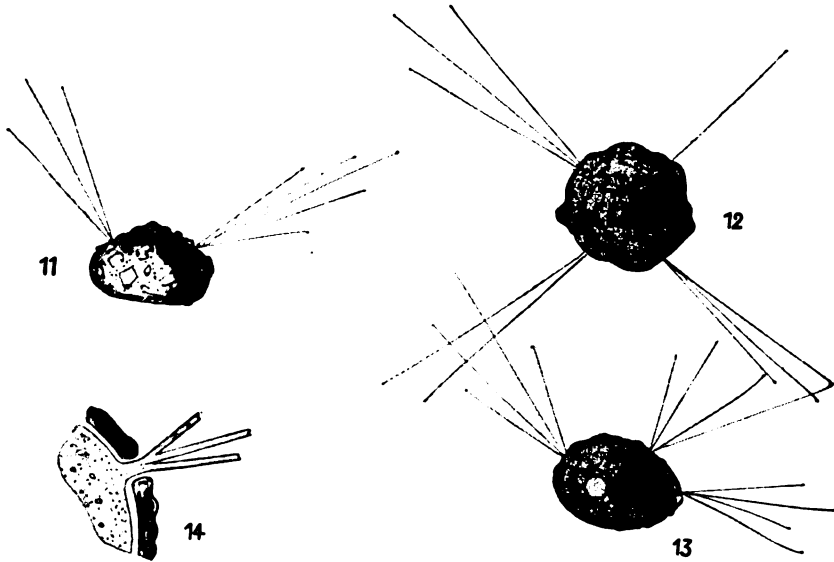
Diamètre de l'enveloppe, 23  $\mu$ .

Telle est la description très-brève que je pourrais donner d'un petit organisme rencontré le 2 Février de cette année dans un lavage de mousses provenant d'un tronc d'arbre à Bougeries près de Genève. Perdu dans le fouillis des débris de toute sorte, cet exemplaire unique (fig. 11) ne s'est fait reconnaître comme Acinétién que grâce à ses tentacules, et probablement d'autres individus dont les bras n'étaient pas déployés ont-ils plus d'une fois échappé à ma vue. Rien en effet ne permet de reconnaître un organisme quelconque dans cette petite masse informe, qui plutôt qu'un Tentaculi-fère sera tout ce que l'on voudra.

Par deux fois, cependant, et dans cette même station de Bougeries, j'ai trouvé un Acinétién très-rapproché de ce même organisme, mais un peu plus grand, à coque ou capsule brune et chitinoïde, de forme

<sup>1)</sup> En réalité, mes observations n'ont pas été, tout à la fin, sans quelque confusion dans les résultats: au 24 Avril, j'avais certainement, sur cette même lamelle, deux individus identiques; mais bientôt je ne me rappelai plus lequel était le jeune et lequel représentait le vieux: l'un d'eux se perdit ce jour-là, et il reste possible que celui que je retrouvai le 25, fût le vieux et non pas le jeune. Tout cela, d'ailleurs, ne change rien aux faits.

analogue, mais simplement rugueuse et non recouverte de particules siliceuses (fig. 12, 13, 14). En outre, au lieu de deux faisceaux de tentacules, on en comptait quatre, et j'ai pu voir cette fois l'un des faisceaux se faire jour à travers l'enveloppe par une perforation spéciale qui m'était restée invisible dans l'individu que nous venons de considérer tout d'abord (fig. 14). Dans l'un des deux exemplaires, on pouvait voir un noyau central.



*Solenophrya massula.*

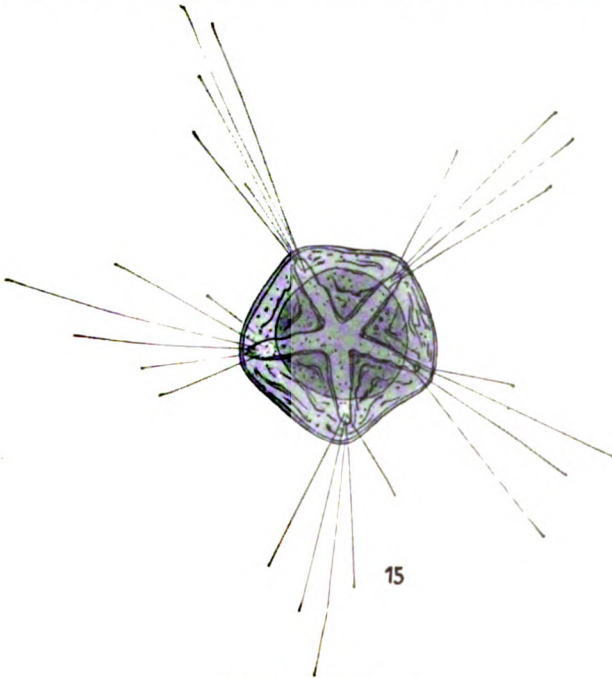
Fig. 11. Individu vu de côté. — Fig. 12. Variété. Individu vu d'en haut. — Fig. 13. Même variété; exemplaire vu par dessous. — Fig. 14. Même variété; coupe de l'enveloppe et base d'un faisceau de tentacules.

Malgré les différences constatées, je croirais volontiers que nous avons encore là le même organisme, dont les faisceaux de tentacules pourraient n'être pas nécessairement limités à deux, et dont l'enveloppe ne serait pas non plus de toute nécessité recouverte de particules siliceuses agglutinées.

*Solenophrya micraster* sp. nova.

Dans cette espèce, plus grande que la précédente et beaucoup plus facilement reconnaissable comme organisme nettement déterminé, l'enveloppe, chitinoïde, rigide, d'un jaune brun plus ou moins foncé, est encore ce que l'on pourrait appeler une capsule, et a la forme

d'un sphéroïde assez fortement comprimé, ou, si l'on veut, d'un melon. Vue d'en haut, elle revêt des contours vaguement pentagonaux. Toute cette enveloppe est rugueuse, couverte de plis, mais dans sa partie inférieure ou basale, qui repose sur le sol, elle devient presque lisse; à sa face supérieure, par contre, elle montre un dessin tout particulier: une étoile à cinq branches, qui semble résulter de la jonction en un point central de cinq fentes radiaires, fentes bordées chacune d'un bourrelet foncé en relief; puis entre les rayons de l'étoile, de petits plissements de l'enveloppe forment des reliefs sinueux ou



*Solenophrya micraster.*

Fig. 15. Individu vu par la face orale.

arqués, ou plus souvent en forme de v, avec la pointe du v dirigée vers le centre (fig. 15). L'étoile semble tout d'abord constituer une vaste ouverture à cinq lobes, mais il n'en est rien; cette ouverture est fermée, couverte d'un plancher, mais plus fin et plus transparent que la membrane d'enveloppe proprement dite. A l'extrémité de chacun des rayons, par contre, il doit y avoir un orifice, car c'est par là que sortent les faisceaux de pseudopodes, mais il est très-indistinct, on ne fait guère que le deviner, comme une tache plus claire que le reste.

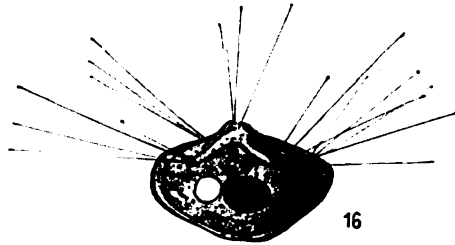
Le corps proprement dit renferme en son centre un gros noyau ellipsoïdal (ovale vu de côté, rond vu d'en haut), rempli de grains, puis tout à côté se voit une belle vésicule contractile (fig. 16). Dans le plasma naissent des petits grains incolores et d'autres jaunâtres.

Les tentacules sont fins, capités, et peuvent arriver en longueur

à  $2\frac{1}{2}$  fois le diamètre de l'enveloppe; ils se font jour aux extrémités des branches de l'étoile, en faisceaux de quatre ou cinq à la fois.

Le diamètre de l'enveloppe est assez variable, et peut aller jusqu'à  $56\ \mu$ ; tout au moins était-ce là la mesure du plus grand exemplaire que j'aie vu; mais en général il est bien inférieur, et varie entre  $30$  et  $40\ \mu$ .

Cette espèce — pour laquelle il faudrait peut-être un nom de genre spécial — est moins rare que la précédente; j'en ai pu observer une douzaine d'individus, et cela dans trois stations différentes, à Bougeries et à Troinex sur des troncs d'arbre, à Frontenex sur un vieux mur.



*Solenophrya micraster.*

Fig. 16. Un autre, vu de côté.

### *Solenophrya flavescens* sp. nova.

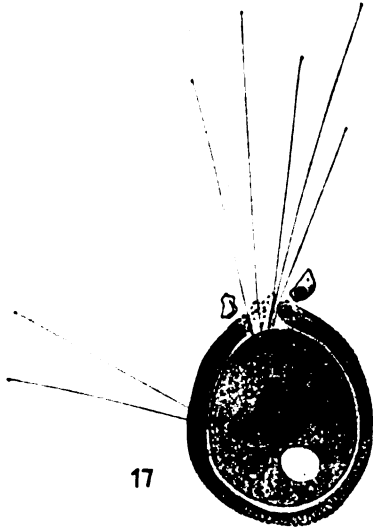
Dans cette espèce, qui n'est peut-être pas plus que la précédente une *Solenophrya* vraie, nous avons encore affaire à une petite masse arrondie, de  $38$  à  $50\ \mu$  de diamètre, soit sphérique, soit plus souvent un peu allongée, et légèrement aplatie à sa face basale. Mais ici, au lieu d'une enveloppe parcheminée et de nature chitinoïde, nous avons un revêtement épais de grains jaunâtres extraordinairement petits, de moins de  $1\ \mu$ , noyés dans un ciment plastique, et qui, tassés les uns sur les autres, constituent une membrane feutrée qui se présente comme vaguement striée en travers (fig. 17). Vue perpendiculairement à son épaisseur, cette enveloppe se montre alors comme recouverte d'une ponctuation très-fine, qui rappellerait celle des *Arcella* parmi les Rhizopodes.

Sur la face basale, qui repose sur le substratum, l'enveloppe est moins épaisse, les petits grains sont moins nombreux, et même quelquefois disparaissent complètement, pour ne laisser que la matière hyaline, une sorte de peau lisse et plastique.

Le corps, qui la plupart du temps ne remplit pas la capsule entière, est bordé d'une ligne noirâtre franche, indice de la pellicule propre de l'animal. Dans le plasma, on voit des granulations incolores ou jaunâtres, ou bien des grains plus gros, même quelquefois des masses vertes volumineuses qu'on reconnaît facilement pour être des produits végétaux (fig. 18).

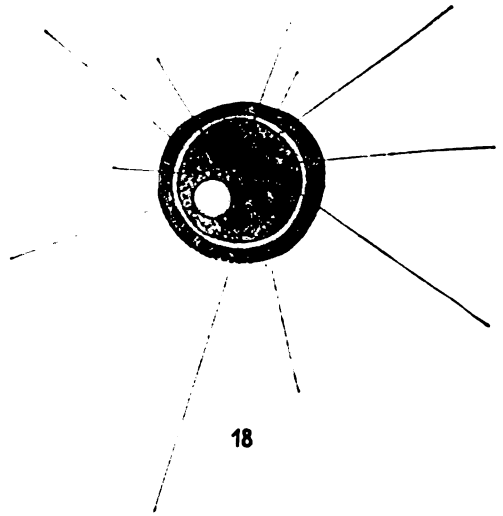
Le noyau, très-grand et rempli de grains, est central, et dans son voisinage on remarque une vésicule contractile; ou bien quelquefois il y en a deux.

Les tentacules, dont la longueur n'excède généralement pas le double du diamètre de l'enveloppe, se font jour la plupart du temps sur un même point, les uns à côté des autres plutôt que sous forme de faisceau partant d'un seul jet. Pour s'épanouir au dehors, ils percent l'enveloppe feutrée, ou plutôt cette enveloppe s'ouvre, se désagrège devant eux, les petits grains qui la pénètrent s'écartant les uns des autres. Il se passe là quelque chose dans le genre de



*Solenophrya flavescens.*

Fig. 17. Exemple vu d'en haut; les tentacules se montrent par le côté. — Deux petites pierres sont prises dans le mucilage à la bouche.



*Solenophrya flavescens.*

Fig. 18. Exemple arrondi; les tentacules sont vus d'en haut, leur point de sortie restant invisible.

ce que l'on observe chez certains Héliozoaires, où les écailles du revêtement squelettique s'écartent devant la proie. Et même, c'est par un phénomène de ce genre que nous devons, me semble-t-il, nous expliquer la présence éventuelle dans le corps de notre *Solenophrya*, de ces proies vertes d'un volume relativement extraordinaire, dont il vient d'être question.

Mais il s'en faut de beaucoup que la région de sortie soit toujours unique; les tentacules peuvent se faire jour sur divers points à la fois, en faisceaux lâches, ou bien même individuellement.

Je voudrais à ce propos revenir sur deux individus particuliers, lesquels, isolés le 25 Janvier 1914 et chacun à part sur une lamelle évidée, ont été conservés tous deux jusqu'au 1<sup>r</sup> Février.

Du premier exemplaire, il n'y a pas grand'chose à dire, sauf qu'il resta les huit jours entiers semblable à lui-même, et, suivant toute apparence, en excellente santé. Dans son intérieur, on voyait, outre les granulations ordinaires, une demi-douzaine de corps fusiformes grisâtres, qui restèrent là jusqu'à la fin sans changement, et plus tard se colorèrent par le carmin.

Les tentacules, d'abord au nombre de six, partant tous d'une même région devant laquelle l'enveloppe s'était ouverte, restèrent tels jusqu'au 27 Janvier; puis le 28, on n'en vit plus que quatre; le 29, ils s'étaient tous rétractés; le 30, on en comptait de nouveau une demi-douzaine, mais dont deux partaient d'une région différente des quatre autres.

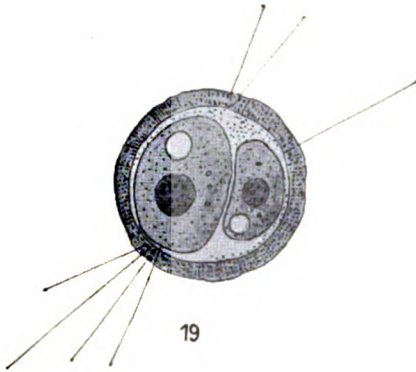
Cet individu possédait deux vésicules contractiles opposées l'une à l'autre aux deux extrémités du corps, et qui restèrent là jusqu'à la fin. Tout d'abord, elles battaient toutes les minutes, d'abord l'une, antérieure, plus petite, puis quelques secondes plus tard l'autre, postérieure, plus grande. Au second jour, leur fonctionnement était devenu moins actif, mais ayant renouvelé l'eau, je les vis recommencer à battre plus vite, toutes les 50 secondes. Au 27 Janvier, la systole arrivait après 2 $\frac{1}{2}$  minutes; le 29, après changement d'eau, l'intervalle fut de nouveau de 50 secondes environ. Le 30 Janvier, c'était encore 2 minutes; le 31, la période s'était encore allongée, mais aucune note positive n'a été prise à ce sujet. Le 1<sup>r</sup> Février, l'animal renfermait quelques grosses vacuoles, signe assez fréquent d'un état maladif, et les tentacules avaient disparu. L'animal fut alors mis à sec, pour une expérience éventuelle de reviviscence, mais humecté le lendemain, il ne reprit pas vie; coloré au carmin boracique, il montrait un noyau entouré d'une demi-douzaine de grains rouges particulièrement foncés qui peut-être représenteraient des micronucléus.

Quant au second exemplaire isolé le 25 Janvier, il se préparait évidemment à quelque phénomène de reproduction; sous l'enveloppe intacte, on voyait le corps divisé en deux parties très-inégales, attenant encore l'une à l'autre.<sup>1)</sup> Le plus gros des segments, pourvu d'une vésicule contractile bien nette, portait à l'un de ses pôles un faisceau de tentacules: le plus petit ne laissait rien distinguer. Au 26 Janvier, les deux parties étaient complètement séparées, et dans

<sup>1)</sup> Au mois de Mars 1913 s'était déjà présenté un cas analogue, mais que je n'avais pu suivre, l'animal s'étant très-vite perdu dans les débris.



le plus petit se montrait cette fois une vésicule contractile. Un deuxième faisceau de tentacules, à peu près opposé au premier, partait d'une région qui semblait intermédiaire entre les deux individus, mais j'ai pu m'assurer qu'il appartenait encore au grand; un tentacule unique, cependant, qui perçait l'enveloppe, provenait certainement du petit. Le 29 Janvier, il en était encore de même,



*Solenophrya flavescens.*

Fig. 19. Deux individus dans une même enveloppe, après bourgeonnement abortif.

mais le petit individu, outre sa vésicule contractile, montrait cette fois un noyau finement granulé (fig. 19). Depuis lors, enfin, il ne se produisit aucun changement, et le 1<sup>r</sup> Février l'animal fut lui aussi mis à sec; mais pas plus que le premier il ne revint le lendemain à la vie, et il finit dans le baume comme son compagnon.

Cet individu spécial est alors intéressant dans ce sens, qu'il semblait indiquer un cas de division pure et simple, analogue à celle que l'on voit se produire par exemple chez les *Cothurnia*, où la logette renferme si souvent deux individus côte à côte. Mais d'après ce que j'ai pu voir dans ces *Cothurnia* mêmes, où quelquefois l'embryon, éprouvant des difficultés à quitter le fond de la coque, perd ses cils et renonce à se détacher, je serais porté à interpréter le phénomène non pas comme une fissiparité véritable, mais dans le sens indiqué par COLLIN pour quelques faits du même genre observés sur certains Tentaculifères, c'est-à-dire comme „un bourgeonnement abortif, au cours duquel l'embryon, ne parvenant pas à se libérer, se développe sur place en adulte“ (COLLIN, l. c. p. 203).

La *Solenophrya flavescens* est un peu moins rare que toutes les espèces dont il vient d'être question, sauf peut-être *Tokophrya muscicola*; mais encore faut-il user de patience pour en trouver quelques représentants; dans une récolte particulière, sur un tronc d'arbre à Bougeries, les individus étaient relativement nombreux, dans ce sens que j'en rencontrais un, ou quelquefois deux, chaque jour. Elle s'est montrée, plus rare, dans trois autres localités, à Troinex sur un tronc d'arbre, puis à Cologny et à la Boisserette (deux localités près de Genève) dans les mousses qui revêtaient de vieux murs.

*Nachdruck verboten.  
Übersetzungsrecht vorbehalten.*

(Aus dem Pathologischen Institute der K. B. Tierärztlichen Hochschule zu München.)

## **Die Übertragungsweise der Rattentrypanosomen.**

II. Teil.

Von  
Tierarzt **Wilhelm Nöller.**

(Hierzu Tafel 22 u. 23 und 3 Textfiguren.)

---

### **Inhaltsverzeichnis.**

	Seite
1. Weitere Untersuchungen über die Übertragungsweise durch Flöhe . . . . .	296—314
2. Die Übertragung der Rattentrypanosomen durch die Rattenlaus . . . . .	314—320
3. Übertragungsversuche durch andere blutsaugende Insekten . . . . .	321—323
4. Versuch einer Einteilung der Trypanosomen nach ihrer Übertragungsweise . . . . .	323—327
5. Schlußsätze . . . . .	327—328
6. Literaturverzeichnis . . . . .	329—334
7. Tafelerklärung . . . . .	335

---

### **Einleitung.**

Nachdem meine 1912 erschienene Arbeit „Die Übertragungsweise der Rattentrypanosomen durch Flöhe“ die Übertragung des *Trypanosoma lewisi* durch Flöhe geklärt hatte, schien es mir geboten, das Übertragungsproblem beim Rattentrypanosoma weiter zu verfolgen. Die Fortschritte, die unsere Kenntnisse über die Über-

tragungsweise verschiedener Trypanosomenarten, besonders der pathogenen, in den letzten Jahren gemacht haben, lassen es rätlich erscheinen, nach Klarstellung der Verhältnisse beim Rattentrypanosoma die Übertragungsweise aller im Überträger sicher bekannten Trypanosomen einmal im Zusammenhange zu betrachten.

### 1. Weitere Untersuchungen über die Übertragungsweise der Rattentrypanosomen durch Flöhe.

#### Literatur.

In den zwei Jahren, die seit dem Erscheinen meiner ersten Arbeit vergangen sind, sind von WENYON und BRUMPT Ergänzungen und neue Forschungen über jenen Gegenstand veröffentlicht worden. WENYON hat schon 1912 meine Versuche in vollem Umfange bestätigen können. Ihm ist es auch gelungen, durch den Menschenfloh (*Pulex irritans*) die Rattentrypanosomen in genau der gleichen Weise zu übertragen. Bei seinen Versuchen hat er gefesselte Flöhe angewandt und gefunden, daß sich mit dieser von mir eingeführten Methode die Übertragungsversuche gut durchführen lassen. Er hat auch wertvolle Angaben über die parasitischen Flagellaten der Flöhe gesammelt. Er fand ebenfalls im Hundefloh die von mir 1912 behandelte *Leptomonas* und eine ähnliche *Leptomonas* im Menschenfloh, bei welcher ihm sogar die Kultur auf Blutagar gelang. 1913 hat er in der gleichen Weise das Rattentrypanosoma durch den häufigsten Pestfloh, *Xenopsylla (Pulex) cheopis*, übertragen. Diese Angaben bieten eine wertvolle Bestätigung meiner 1912 ausgesprochenen Vermutung, daß wahrscheinlich alle auf Ratten vorkommenden Puliciden als Überträger des Rattentrypanosomas wirken können.

BRUMPT hat schon im Jahre 1912 zeigen können, daß die von mir auch für *Schizotrypanum cruzi* vermutete Übertragungsweise vorkommt. Er hat durch intraperitoneale Einspritzung von Kot infizierter *Conorhinus*-Exemplare eine Infektion bei Versuchstieren zustande bringen können. Wenn er sich freilich auf Grund dieser wenigen und ungenau durchgeführten Experimente (intraperitoneale Einspritzung!) die Priorität zuschreibt und glaubt, daß er die von mir genau untersuchte Übertragungsweise durch Kot schon nachgewiesen hätte, ehe meine Arbeit erschien, so muß ich dagegen

Protest erheben, denn während ich festgestellt habe, daß die Ratten die Infektion mit *Trypanosoma lewisi* durch Ablecken des von den Flöhen während des Saugaktes abgegebenen Kotes erwerben, hat er den Kot von *Conorhinus* intraperitoneal eingespritzt, und zwischen intraperitonealer Einspritzung und Auftragen des Kotes auf die unverletzte Zungenschleimhaut der Versuchstiere dürfte doch ein gewaltiger Unterschied bestehen. Seine genaueren Versuche, welche später für *Conorhinus* in einwandfreier Weise die Möglichkeit der Infektion durch die unverletzte Schleimhaut zeigten, sind erst nach Erscheinen meiner Arbeit veröffentlicht worden. In einer weiteren Arbeit hat er dann 1913 die Entwicklung und Übertragung verschiedener weiterer Trypanosomenarten durch Flöhe und Wanzen festgestellt. Er hat das Rattentrypanosoma auch durch *Ceratophyllus hirundinis* übertragen. Das *Trypanosoma nabiasi* RAILLET 1895 hat er durch den Kaninchenfloh<sup>1)</sup> übertragen können. Das *Trypanosoma blanchardi* BRUMPT 1905 hat er durch *Ceratophyllus laverani* ROTHS. übertragen. Das *Trypanosoma duttoni* THIROUX 1905 hat er durch *Ceratophyllus hirundinis* übertragen können. Außerdem hat er bei dem Eichhörnchenfloh<sup>1)</sup> eine *Leptomonas* gefunden, die er *Herpetomonas debreuii* genannt hat.

### Nachträge zur Technik.

Die Methode der Benutzung gefesselter Flöhe bei den Übertragungsversuchen hat in den beiden Jahren bereits Eingang als Demonstrationsmethode und als Arbeitsmethode in den Pestlaboratorien gefunden. Da mir über die genaue Technik der Fesselung häufig Anfragen zugegangen sind, so will ich hier kurz auf einiges Ergänzende eingehen.

Besondere Schwierigkeit macht manchmal die Beschaffung eines geeigneten Drahtes, mit dem man die Flöhe gut fesseln kann. Am besten hat sich mir reiner Silberdraht bewährt, der eine Dicke von 0,15 mm besaß. Da aber reiner Silberdraht von dieser Stärke nicht immer leicht zu beschaffen ist, so habe ich in letzter Zeit mit verschiedenen anderen Drahtsorten vergleichende Versuche angestellt. Kupferdraht, wie er in Handlungen elektrischer Bedarfsartikel leicht erhältlich ist, hat sich mir ebensogut bewährt wie WENYON, der seinen Gebrauch schon 1912 vorschlug. Doch ist zu beachten, daß der Kupferdraht nicht über 0,15 mm dick ist, da er meist

<sup>1)</sup> Der Artname der betreffenden Flöhe ist in der Arbeit nicht angegeben.

weniger geschmeidig ist als reiner Silberdraht. Besonders brauchbar ist Draht, wie er zum Umspinnen von Saiten benutzt wird und zwar habe ich hier mit Vorliebe die Kupfersilberlegierung mit der

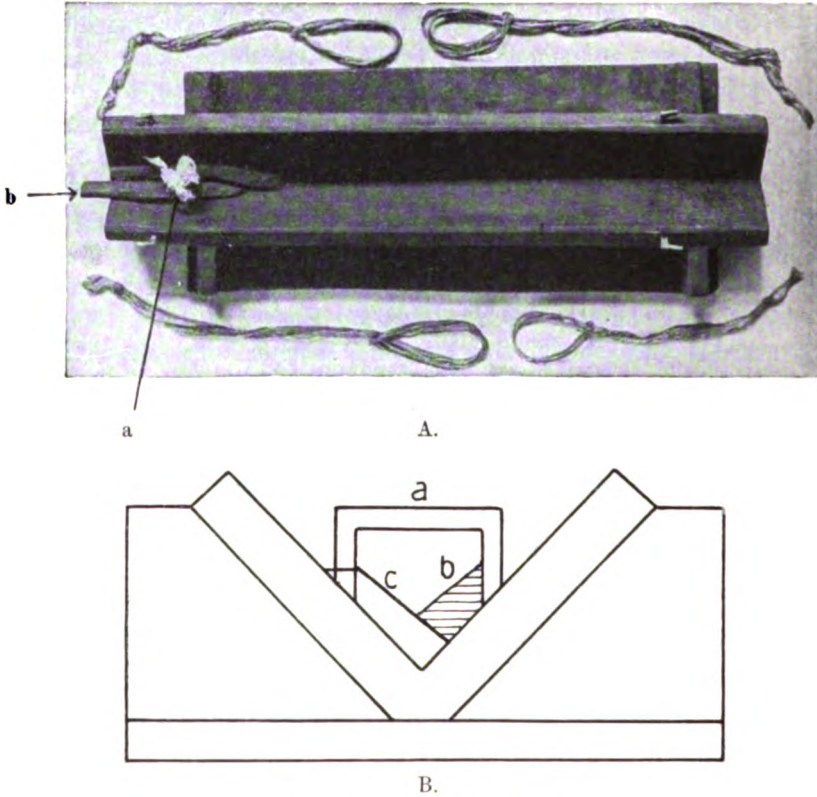


Fig. 1. Rattenspannbrett.

A. Rattenspannbrett von oben gesehen. a) Mit Band umwundener Metallsteg zum Festhalten der Oberkieferschneidezähne der Ratte. b) Einschiebbare Hälfte des Holzkeiles.

B. Querschnitt durch das Spannbrett bei a. a) Metallsteg. b) Einschiebbarer Teil des Holzkeiles, der unter den Kopf der Ratte untergeschoben wird. c) Fester Teil des Holzkeiles.

Drahtnummer 18 benutzt. Dieser Draht besitzt nach mikroskopischen Messungen eine Stärke von 0,11 bis 0,12 mm.<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> Den Hinweis auf solchen Draht verdanke ich Dr. SCHÖMMER. Ich bezog den Draht von L. Breitenberger, Saiteninstrumentenmacher, München, Kapuzinerstraße 19.

Viel Schwierigkeit macht auch die Beschaffung geeigneter Rattenspannbretter. Die LAUTENSCHLÄGER'schen Rattengestelle haben für die Versuche mit gefesselten Flöhen den großen Nachteil, daß die Ratten sehr oft zucken und unruhig werden, weil sie mit dem Rücken flach auf dem Brett aufliegen und ihre Seitwärtsbewegungen deshalb nicht gehindert werden. Deshalb habe ich in letzter Zeit ein selbstgebautes Rattengestell zur Anwendung gebracht, welches die Seitwärtsbewegungen der Ratte durch seitliche Bretter vollkommen unmöglich macht. Die Befestigung des Kopfes geschieht durch Einklemmen der Oberkieferschneidezähne zwischen einen Metallsteg und einen untergeschobenen Holzkeil, der den verschiedenen Größen der Ratten angepaßt ist. Die Befestigung der Füße geschieht durch eingeweichte breite Bänder, welche an vier Haken befestigt werden. Die genaue Technik dieser Aufspannmethode wird aus der beigegebenen Textfigur 1 ersichtlich.

Um stets eine genügende Anzahl von Hundeflöhen zur Hand zu haben, habe ich 1913 gemeinsam mit Herrn Kollegen HOBMAIER die Züchtung der Flöhe mit Hilfe einiger stark verflörter Hunde begonnen. Auf diese Weise ist es mir auch gelungen, stets zahlreiche Hundeflöhe und Hundeflohlarven zu meiner Verfügung zu haben. Auch Hühnerflöhe habe ich in letzter Zeit gezüchtet. Der Ausgangsstamm stammt aus dem thüringischen Orte Gösselborn (Schwarzburg-Rudolstadt). Die Flöhe und Flohlarven, die mir von dort geschickt worden waren, wurden in einen Korb gebracht, auf dessen Boden sich Sägemehl und Kehrlicht befand. Auf diese Schicht wurde dann etwas Stroh und Heu gelegt und zu diesem Korbe ein Huhn in einen Käfig gesetzt. Da das Huhn diesen Korb mit Vorliebe zur Ruhestätte benutzt, haben die Flohlarven auch im Winter die genügende Wärme zu ihrer Entwicklung und die Flöhe Gelegenheit zum Blutsaugen. Auf diese Weise habe ich mitten im Winter stets genügend Hühnerflöhe und Hühnerflohlarven zu meinen Untersuchungen vorrätig gehabt. Über die genaue Technik der Hundeflohzucht wird Herr Kollege HOBMAIER später berichten.<sup>1)</sup>

Bei der Präparation der Flöhe habe ich die 1912 beschriebene Art beibehalten. Auf diese Weise lassen sich auch die schlankeren Hühnerflöhe sehr gut präparieren. Bei der Präparation der Larven trennte ich mit einer scharf geschliffenen Lanzett-nadel zunächst den Kopf und dann das letzte Segment ab. Der Darm quillt daraufhin

<sup>1)</sup> Unser Vorgehen beruhte im Prinzip darauf, daß unter dem Lager der Hunde die Larven in Sägemehl und Kehrlicht zusagende Nahrungs- und Aufenthaltsbedingungen fanden.

ohne weiteres aus der vorderen Schnittöffnung hervor und kann mit der Lanzette herausgezogen werden, während man mit einer scharfen Präpariernadel das vorletzte Chitinsegment der Larve festhält. Ein Zerreißen des Darmkanales findet dabei nur selten statt. Der herauspräparierte Darmkanal der Flöhe wurde, falls er nicht sofort zu Ausstrichpräparaten benutzt wurde, in konzentrierter Sublimatlösung fixiert, in Alkohol ausgewaschen, mit Eosin stark angefärbt und nach Entwässerung in Alkohol in Paraffin eingebettet. Beim Umbetten von einer Paraffinstufe in die andere benutzte ich kleine erwärmte Metallspatel, mit denen der angefärbte Darm aus den Blockschälchen, in denen sich das Paraffin befand, ohne Schwierigkeit aufzunehmen und in die nächste Stufe überzulegen ist. Beim Aufkleben der Serienschritte benutzte ich mit Vorteil Glycerineiweiß, da von nicht aufgeklebten Schnitten beim Färben und Differenzieren in der Regel die meisten abschwimmen, selbst wenn man die auf den Objektträger aufgezogenen Schnitte einen oder mehrere Tage im Brutschranke bei 37° C aufbewahrt hat. Zum Färben wurden zahlreiche Methoden benutzt. Am meisten Anwendung fanden Hämalaun, Hämatoxylin nach DELAFIELD, Eisenhämatoxylin nach HEIDENHAIN und nach ROSENBUSCH. Für die Schnitte fand auch die Giemsa-Färbung in der Modifikation nach SCHUBERG, für die Trockenpräparate die einfache Giemsa-Färbung Anwendung. Bei *Legerella* ergab die Beizung mit Eisenalaunlösung, die nachträgliche Färbung in Hämatoxylin nach HEIDENHAIN und die Differenzierung mit schwachem (0,5 proz.) salzsaurem Alkohol sehr gute Präparate, da diese Art der Färbung die Nachteile des Eisenhämatoxylins nach HEIDENHAIN, d. h. die starke Schwärzung einzelner Chromatinbrocken und die vollkommene Entfärbung des übrigen Chromatins beim Differenzieren nicht besitzt.

Mit Safranin-Lichtgrün habe ich brauchbare Präparate bei *Legerella* bisher nicht erzielt.

Was das Verhalten der Flöhe beim Saugakte anbelangt, so habe ich über den Hundefloh wenig Neues hinzuzufügen. Daß man die Saugakte nicht solange auszudehnen braucht, wie ich es 1912 angegeben habe, ist ja verständlich; auch verträgt der Hundefloh ein- oder mehrtägige Hungerperioden ohne jeden Schaden, wenn die Außentemperatur nicht allzu hoch, d. h. nicht wesentlich über + 25° C beträgt. Immerhin ist jedoch eine zu starke Verkürzung der Saugakte nicht geboten, da sie von den natürlichen Verhältnissen abweicht, denn da der Hundefloh als ständiger Parasit des Hundes hier stets Gelegenheit zum Saugen hat, so ist nicht anzunehmen, daß er hier

weniger saugt als auf den Ratten, auf denen ich ihn gelegentlich 4 Stunden lang beim Saugen beobachten konnte. Wenn ihm Gelegenheit zum Saugen geboten wird, so saugt er eben auch, wenn er seinen Nahrungsbedarf schon längst gedeckt hat und mit seinem Kote das reine aufgenommene Blut wieder abgibt.

Der Hühnerfloh, dessen Weibchen sich ebenso leicht mit Silberdraht fesseln lassen wie die des Hundeflohes, verhält sich beim Saugen wesentlich anders. Es gelingt ohne weiteres, ihn bei täglich ein-stündiger Fütterung auf festgespannten Ratten wochenlang am Leben zu erhalten. Während der Saugakte gibt er überhaupt keinen oder höchstens ein einziges Tröpfchen Kot ab. Daß er wirklich Rattenblut aufnimmt und nicht etwa nur sich auf den Ratten eine Woche lang am Leben erhält, geht aus dem mikroskopischen Befunde hervor. Zerlegt man einen Hühnerfloh, der vorher auf Ratten Blut gesogen hat, das mit Trypanosomen infiziert war, so lassen sich in seinem Magen ohne weiteres die Rattentrypanosomen in Menge nachweisen.

### Parasiten der Flöhe.

Für jeden, der mit Flöhen Übertragungsversuche bei Trypanosomen oder Leishmanien anstellen will, ist eine exakte Kenntnis der Parasiten der Flöhe unerläßlich. Besondere Aufmerksamkeit erfordern zwar nur die trypanosomenähnlichen Flagellaten, weil sie sehr leicht mit Entwicklungsformen von Trypanosomen verwechselt werden können und, wie die neuere Geschichte der Kala-Azar-Forschung beweist, sehr oft als Entwicklungsformen der Leishmanien, besonders der *Leishmania infantum* angesprochen worden sind. Aber auch die Gregarinen erfordern die Aufmerksamkeit derjenigen, welche etwa Übertragungsversuche mit dem Hundebandwurm *Taenia cucumerina* anstellen wollen, weil ihre Anwesenheit im Darne der Hundeflohlarven lästig werden kann und ihre Cysten dem Untersucher unbedingt bekannt sein müssen.

### Literatur.

Die ersten Angaben über Flagellaten im Darne von Flöhen stammen von BALFOUR, der im Jahre 1906 in dem Floh *Laemopsylla cleopatrae* einen Flagellaten fand, den er 1908 *Crithidia pulicis* nannte und abbildete. PATTON fand 1908 in *Ctenocephalus felis* in Indien eine *Leptomonas*, die auch die MALPIGHI'schen Gefäße befallen soll. Im Hundefloh (*Ctenocephalus canis*) fanden SWELLEN-GREBEL und STRICKLAND 1910 in England ovale Ruhestadien einer



*Leptomonas*. Dieser Parasit wurde 1911 von MARZOCCHI in Italien gesehen und von mir 1911/12 in Berlin aufgefunden und untersucht. Später taufte diesen Flagellaten FANTHAM 1912 (*Herpetomonas ctenocephali*) und BRUMPT 1913 (*Herpetomonas pseudoleishmania*). Prioritätsrechtlich gilt der von FANTHAM gegebene Name.

MACKINNON fand 1909 in dem Rattenfloh *Ctenophthalmus agyrtes* eine *Leptomonas*, die sie *Herpetomonas ctenophthalmi* taufte und in dem Maulwurfsfloh *Hystrichopsylla talpae* einen Flagellaten, den sie *Crithidia hystrichopsyllae* benannte. In *Ctenophthalmus agyrtes* hatten PATTON und STRICKLAND schon einen Flagellaten, der aber wohl nur Entwicklungsformen des Rattentrypanosomas darstellt, aufgefunden und *Crithidia ctenophthalmi* benannt. SWINGLE entdeckte 1911 in den Rattenflöhen *Ceratophyllus* sp. (*lucifer* ROTSCH. ?) und *Pulex* sp. (*brasiliensis* BAKER ?) einen Flagellaten und nannte ihn *Herpetomonas pattoni*. PORTER fand 1911 in dem gewöhnlichen Menschenfloh einen Flagellaten mit echter undulierender Membran, also eine echte *Crithidia*, die sie *Crithidia pulicis* nannte. Da sie den Flagellaten auch in Flöhen fand, die sie seit ihrem Ausschlüpfen aus der Puppe nur mit ihrem eigenen Blute genährt hatte, weist sie mit Nachdruck darauf hin, daß dieser Flagellat zu irgendwelchen Trypanosomen keine Beziehung hat. PATTON erwähnt 1912 neben dem Vorkommen der *Leptomonas* im Katzenfloh noch eine *Leptomonas* aus dem indischen Nagetierfloh *Ceratophyllus alladinis*. WENYON beschreibt 1912 aus *Pulex irritans* eine echte *Leptomonas* (*Herpetomonas*), die also keine undulierende Membran besitzt und deren Kultur ihm im Kondenswasser von Kaninchenblutagar gelang. 1913 hat er von diesem Flagellaten die Kernteilung eingehend beschrieben. BRUMPT erwähnt dann 1913, wie schon angeführt, daß der Eichhörnchenfloh (*Pulex sciurorum* BOUCHÉ) eine *Leptomonas* beherbergt und benennt diese *Herpetomonas debreuilii*. LAVERAN und FRANCHINI haben in mehreren Arbeiten gezeigt, daß es experimentell möglich ist, durch Einspritzung von Hundefloh- und Rattenflohleptomonaden bei Säugetieren Infektionen zu erzeugen, die mit *Leishmania*-Infektionen Ähnlichkeit besitzen, Versuche, die für Kala-Azar-Forschung Bedeutung haben.

In den Flohlarven haben die Flagellaten bisher nur PORTER 1911 und CHATTON und DELANOE 1912 und PATTON 1908, 1912 aufgefunden und zwar PORTER die *Crithidia pulicis* in den Larven des Menschenflohes, CHATTON und DELANOE die *Leptomonas pattoni* in den Larven von *Ceratophyllus fasciatus* und PATTON Leptomonaden in den Larven von *Ctenocephalus felis* und *Ceratophyllus alladinis*.

Gregarinen waren in Flöhern beobachtet worden von LEUCKART im Jahre 1861, der in Flohlarven welche gesehen hat. Dann beschrieb ROSS 1909 in Hundeflöhen aus Ägypten eine Gregarine, die er *Greg. ctenocephali canis* nannte. SWINGLE erwähnt 1911 das Vorkommen von Gregarinen in dem Rattenfloh *Pulex* sp. (*brasiliensis* BAKER?). 1911 beschrieb WELLMER aus den Larven von *Ceratophyllus gallinae* und *C. fringillae* eine Gregarine mit achthakigem Epimerit und nannte sie *Actinocephalus parvus*. 1912 beschrieb STRICKLAND aus den Larven des Rattenflohes *Ceratophyllus fasciatus* eine Gregarine unter dem Namen *Agrippina bona*. ASHWORTH und RETTIE geben 1912 ein vollständiges Verzeichnis der in Flöhen und Flohlarven aufgefundenen Gregarinen und beschreiben aus dem Magen von *Ceratophyllus styx* unter dem Namen *Steinina rotundata* eine neue Gregarine.

BALFOUR fand 1905 in *Laemopsylla cleopatrae* Sporen einer Coccidienart und vermutet, daß die Sporen wegen ihrer Ähnlichkeit mit Entwicklungsstadien der Hämogregarinen einer solchen der Gattung *Haemogregarina* zugehören und zwar der *H. (Hepatozoon) jaculi* BALFOUR, mit der die Nager infiziert waren, von denen die betreffenden Flöhe stammten.

Von Cnidosporidien habe ich 1912 im Hundefloh ein Microsporid der Gattung *Nosema* unter dem Namen *Nosema pulicis* kurz beschrieben. Es ist von Interesse, daß von jener Gattung die ja die bekannten Erreger der Pebrinekrankheit der Seidenraupen und der Nosemaseuche der Bienen enthält, auch beim Hundefloh ein Vertreter vorkommt.

Aus den MALPIGHI'schen Gefäßen des Rattenflohes *Ceratophyllus fasciatus* hat MINCHIN 1910 ein Protozoon unter dem Namen *Malpighiella refringens* beschrieben und glaubt, daß dieser Parasit zu den Amöben zu stellen ist.

### Eigene Untersuchungen über die Parasiten der Flöhe.

1. *Leptomonas ctenocephali* FANTHAM 1912 =
- Herpetomonas ctenocephali* FANTHAM 1912 =
- Herpetomonas pseudoleishmania* BRUMPT 1913.

Dieser Flagellat hat in der Kala-Azar-Forschung eine verhängnisvolle Rolle gespielt. BASILE, SANGIORGI, ALVAREZ, PEREIRA DA SILVA, SERGENT, L'HÉRITIER und LEMAIRE haben diesen Flagellaten als Entwicklungsform von *Leishmania infantum* angesprochen, nachdem SANGIORGI und BASILE die Vermutung ausgesprochen hatten,

daß der Hundefloh und der Menschenfloh die Überträger der Kala-Azar-Parasiten seien. Nachdem ich bereits 1912 darauf hingewiesen hatte, daß diese Flagellaten beim Hundefloh auch in Kala-Azar-freien Gegenden (Berlin) vorkommen und hier sogar recht häufig sein können, hat WENYON für England meine Befunde bestätigen können und GABBI und SCORDO haben sich der von mir geübten Kritik vollkommen angeschlossen. Die Kalar-Azar-Frage ist auch nach den neuesten Veröffentlichungen noch nicht als gelöst zu betrachten. Denn nach den Untersuchungen von WENYON ist es nicht wahrscheinlich geworden, daß Leishmanien im Darmkanal der Flöhe wirklich eine Entwicklung durchmachen. Ich habe in München die Untersuchungen über den Flagellaten fortgeführt und habe mein Augenmerk besonders auf die Hundeflohlarven gerichtet und in der Tat zeigte sich, daß sie zu einem ziemlich großen Prozentsatz infiziert sind. Die *Leptomonas*-Formen zeigen besonders bei ganz jungen Larven eine viel schlankere Gestalt, als man sie gewöhnlich bei dem Hundefloh antrifft. Flagellaten mit typischer undulierender Membran, für die ich den Namen *Crithidia* gebrauche, habe ich bis heute bei Hundeflöhen oder Hundeflohlarven noch nicht auffinden können. Deshalb bin ich heute wie WENYON davon überzeugt, daß die *Leptomonas ctenocephali* von der *Crithidia pulicis* PORTER's verschieden ist. Ich habe auch versucht, diesen Flagellaten zu züchten, indem ich von Flöhen, die vorher in 60proz. Alkohol untergetaucht worden waren, den Darm unter aseptischen Bedingungen herauspräparierte, in einem Tröpfchen physiologischer Kochsalzlösung zerzupfte und davon Platinösen in je 1 Blutagar-Röhrchen einsäte. In mehreren der Röhrchen wuchsen in der ersten Woche echte Leptomonaden, doch ist es mir bisher nicht gelungen, sie in Reinkultur zu gewinnen, da die Röhrchen alle nachträglich durch Coccen überwuchert wurden. Deshalb habe ich auch bisher auf die intraperitoneale und intravenöse Einspritzung der Kulturformen bei Hunden und Katzen verzichten müssen, Versuche, die zur Klärung der Kala-Azar-Frage von Wichtigkeit wären, weil sie die Frage prüfen würden, ob die in normaler Weise nur als Flohparasiten lebenden und sich durch ovale Dauercysten verbreitenden Flohflagellaten unter bestimmten Bedingungen eventuell doch für den Menschen und für andere Tiere pathogen wirken könnten, Versuche, die dringend erwünscht wären, nachdem LAVERAN und FRANCHINI angegeben haben, daß es experimentell gelingt, Versuchstiere mit diesen Flagellaten zu infizieren.

Es ist zu verwundern, daß WENYON, dem doch Reinkulturen der *Leptomonas* aus dem Menschenfloh zur Verfügung standen, derartige Versuche bisher nicht unternommen oder doch nicht veröffentlicht hat. Indessen dürfte auch schon die Auffindung des Flagellaten bei den Hundeflohlarven genügen, um ihn mit Sicherheit als spezifischen Flohparasiten anzusprechen, der sich vom Kote des erwachsenen Flohes aus auf die Flohlarven und von Larve zu Larve verbreitet, ohne einen Wirbeltierwirt zu brauchen.

## 2. *Leptomonas spec.*<sup>1)</sup>

(Tafel 22 Fig. 1 u. 2.)

Im September 1913 fand ich bei Hühnerflöhen (*Ceratophyllus gallinae* SCHRANK) und deren Larven und in Taubenflöhen (*C. columbae* WALCKEN. und GERV.) eine weitere *Leptomonas* in Thüringen, die bei diesen Flöhen und bei deren Larven außerordentlich häufig, zum Teil bei nahezu 50 Proz. vorkam. Die *Leptomonas* mißt in ihren vegetativen Formen ungefähr 10—14  $\mu$  in der Länge ohne Geißel, deren Länge allein noch 8—16  $\mu$  beträgt. Eine undulierende Membran wurde nie beobachtet. Die ovalen bis länglichen Ruheformen messen 3—7  $\mu$  in der Länge und 2—3  $\mu$  in der Breite. Die Flöhe und Flohlarven, die mit diesem Parasiten infiziert sind, zeigen ihn meist in ungeheuren Massen. Der ganze Dünndarm und oft noch das Rektum sind mit einem Polster von Flagellaten bekleidet. Eine besondere Eigentümlichkeit, durch die sich der Flagellat von anderen Flohleptomonaden unterscheidet, habe ich bisher nicht auffinden können; das oft abnorm spitz ausgezogene Hinterende läßt sich ja als solches Merkmal nicht ansprechen, da es gelegentlich auch bei den anderen Arten vorkommt. Infolge der ungeheuer starken Infektion, die bei diesem Parasiten die Regel ist, läßt sich der Flagellat in seinen vegetativen und in seinen Dauerformen im Kote der Hühnerflöhe stets in ungeheuren Massen nachweisen, oft zu Hunderten in einem einzigen Kottröpfchen. Den Hühnerflohkot gewann ich entweder von den gefesselten Flöhen, die auf weißen Rattenhaaren in Petrischalen aufbewahrt wurden. Durch Aufnahme der Kottröpfchen in ein Tröpfchen physiologischer Kochsalzlösung und Herstellung von Trocken-Giemsa-Ausstrichen gelingt der Nachweis ohne weiteres. Noch einfacher kann man vorgehen, wenn man 10—15 Hühnerflöhe

<sup>1)</sup> Von einer Benennung sehe ich ab, da sich morphologische Besonderheiten, die den Parasiten gegen andere Flohleptomonaden abgrenzen würden, nicht auffinden ließen.

in ein weithalsiges Gläschen steckt, die Mündung des Glases umstülpt und auf einem Objektträger mit Wachs festmacht. Am anderen Tage haben die Flöhe auf den Objektträger mehrere Kottröpfchen abgegeben, die mit physiologischer Kochsalzlösung verteilt und zu einem Giemsa-Ausstrich verarbeitet werden können. Daß auch dieser Flagellat mit Trypanosomen oder Leishmanien nichts zu tun hat, geht schon aus seinem Vorkommen bei den Flohlarven hervor. Doch habe ich auch das Blut der jungen Tauben aus den Taubennestern, aus denen ich die Taubenflöhe bezog, in Ausstrich untersucht, habe jedoch nie ein *Trypanosoma* oder eine *Leishmania* auffinden können. Auch habe ich das Blut eines Huhnes, das in München monatelang vielen infizierten Hühnerflöhen als Nahrungslieferant diente, kulturell in Kondenswasser von inaktiviertem Schafblutagar untersucht, doch sind auch in den Kulturröhrchen keine Flagellaten gewachsen. Doch sei hier darauf hingewiesen, daß die Brüder SERGENT in Algier bei einer Taube im Blute einmal eine *Leptomonas* fanden, die sie 1907 beschreiben und abbilden.

### 3. Gregarinen.

Bei sämtlichen Hühnerfloh- und Taubenflohlarven aus Thüringen, die ich hier in München weiter fortgezüchtet habe, fand ich im Mitteldarme massenhaft die von WELLMER beschriebene Gregarine *Actinocephalus parvus*. Larven ohne Gregarinen habe ich bisher nicht gefunden. Bei den erwachsenen Flöhen dagegen fand ich bisher die Gregarinen im Magen nie, obgleich ich doch schon eine große Anzahl Hühnerflöhe seziiert habe. Ein einziges Mal fand ich im Schnitt von Hühnerflohmagen Sporen der Gregarine in der Nähe des Proventriculus.

Bei den erwachsenen Hundeflöhen habe ich Gregarinen bisher nicht auffinden können. Die Hundeflohlarvenzucht, die ich im Sommer und Herbst 1913 mit Herrn Kollegen HOBMAIER eingerichtet hatte, zeigte nie eine Gregarineninfektion, obgleich zu jener Zeit von HERRN HOBMAIER und mir zahlreiche Flohlarven seziiert und untersucht worden sind. Erst Anfang 1914, einige Monate nachdem ich die Hühnerflohlarven aus Thüringen in die Institutstallung in die Nähe der Hundeflohzucht gebracht hatte, zeigten mit einemmal sämtliche Hundeflohlarven eine sehr starke Gregarineninfektion mit einer der Hühnerflohlarvengregarine sehr ähnlichen, wohl identischen Form, die auch ein mit Haken versehenes Epimerit besitzt. Die Zahl der Haken festzustellen, ist mir bisher nicht genau gelungen, da die meisten erwachsenen Gregarinen das Epimerit bereits

abgestoßen haben und deshalb Vertreter der Gattung *Gregarina* vertauschen. Doch ist die Hakenzahl keine sehr große und es ist sehr wahrscheinlich, daß die Gregarine mit dem *Actinocephalus parvus* WELLMER identisch ist und daß die Infektion erst durch die Einführung der Hühnerflohlarven zustande gekommen ist, da vielleicht mit den Sammelbrettern, auf denen ich die Larven auszulesen pflegte, gelegentlich Gregarinencysten von der Hühnerflohzucht in die Hundeflohzucht hinübergebracht worden sind. Ob diese Gregarine mit der von Ross beschriebenen identisch ist, kann ich nicht feststellen, da mir die Originalarbeit von Ross nicht zugänglich war. Besonders auffällig war bei den Hundeflöhen das häufige Vorkommen von Cysten, in denen sich drei Gregarinen zusammen encystierten.

#### 4. *Legerella parva* NÖLLER 1913.

Bei den Hühnerflöhen und Taubenflöhen, die ich im September 1913 in Thüringen zu untersuchen Gelegenheit hatte, fand ich bei 25—40 Proz. in den Malpighischen Gefäßen ein zu den Adeleidae gehöriges monospores Coccid, das ich in die Gattung *Legerella* unter dem Namen *L. parva* eingestellt habe. Da von der Gattung *Legerella* bisher nur *Legerella nova* SCHNEIDER und *Legerella testiculi* CUÉNOT bekannt sind, welche beide in Glomerisarten vorkommen und bedeutend größer sind, so besteht kein Zweifel darüber, daß es sich hier um eine neue Art handelt. Besonderes Interesse gewann dieser Fund dadurch, daß sich bei der großen cytologischen und verwandtschaftlichen Ähnlichkeit mit dem neuerdings von REICHENOW ausführlich studierten *Karyolysus lacertae* hier ein Übergang von den nicht wirtswechselnden Adeleiden zu den Hämogregarinen ergibt, weil *Legerella parva* das erste in einem blut-saugenden Arthropoden aufgefundene hämogregarinenähnliche Coccid darstellt; dadurch gewinnt die Ableitung der Hämogregarinen durch REICHENOW von den Coccidien der Adeleidengruppe eine neue Stütze. Bei den Larven des Hühnerflohes und des Taubenflohes habe ich das Coccid bisher noch nicht aufgefunden, doch scheint es auch hier vorzukommen, da ein soeben aus der Puppe ausgeschlüpfter Hühnerfloh bei seiner Sektion bereits mit *Legerella* infiziert war. Der Parasit sitzt in den Epithelien der Malpighischen Gefäße der Flöhe und zwar sind die Infektionen meist so stark, daß fast jede Zelle ein- oder mehrmals befallen ist. Dabei sitzen in den dem Pylorus nächstliegenden Teilen der Malpighischen Gefäße die Merozoiten und Schizonten, in den mittleren Teilen die Befruchtungsstadien und in

den Endteilen die fertigen Sporocysten, die nach Zerstörung der Zellen durch das Lumen der Malpighischen Gefäße nach dem Darne zu hinabwandern. Im Magen der Hühnerflöhe habe ich das Coccid bisher nicht gesehen, dagegen fand ich es mehrfach im blutgefüllten Magen von Taubenflöhen, und zwar waren es wohl meist die eine frische Infektion erzeugenden, schon heranwachsenden und etwas

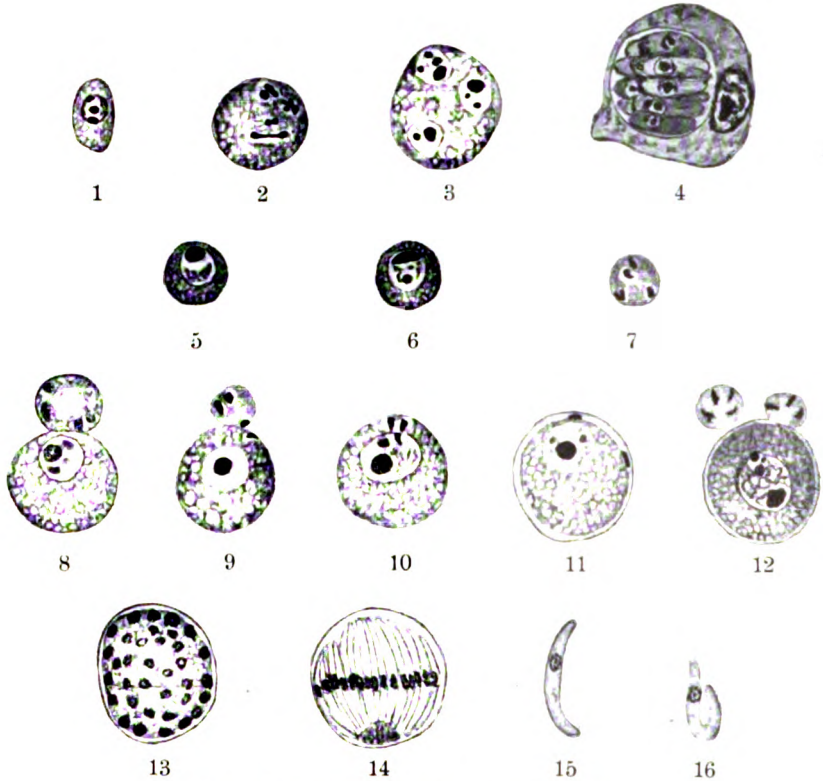


Fig. 2. *Legerella parva*. Vergr. 1030  $\times$ .

Färbung mit Hämalaun, Hämatoxylin nach DELAFIELD und HEIDENHAIN.

1. Junger Merozoit. 2—4. Schizonten. 5—7. Microgametocyten.

8—12. Befruchtungsstadien. 13 u. 14. Sporenbildung. 15 u. 16. Sporozoiten.

verkürzten Sporozoiten, die mich im Anfang nach Trockenpräparaten fast zu der Ansicht gebracht hätten, es handle sich hier um eine, bei den jungen Tauben vorkommende Hämogregarine. Da ich aber bei den jungen Tauben, aus deren Nestern die Flöhe stammten, nie eine Hämogregarineninfektion auffinden konnte, und ich auch bald die Schizogonie in den malpighischen Gefäßen fand, so war es klar, daß

die aufgenommenen Sporozoiten hier in dem Magen eine geringere Zeit verweilen und in ihrem Kernbau geringe Umwandlungen durchmachen, die sie wegen des kompakten Randkörpers den Merozoiten ähnlich machen. Die Schizonten erwachsen aus ziemlich kurzen ovalen, 6—8  $\mu$  langen und 2—4  $\mu$  breiten Merozoiten, die in ihrem Kern einen mit Eosin stark färbbaren Innenkörper und in dem ringförmigen und schwach ausgeprägten Außenchromatin einen kompakten, stark färbbaren basichromatischen Randkörper, das sog. Caryosom zeigen. Bei der Teilung der Kerne in den runden 10 bis 15  $\mu$  großen Schizonten ist es hauptsächlich dieser stark färbbare Randkörper, der wegen seiner intensiven Färbung das ganze Bild beherrscht, während das andere Chromatin und auch der Binnenkörper gänzlich verschwinden, wenn man die Präparate genügend ausdifferenziert. Die Teilung dieses Randkörpers, in dem sich weitere Einzelheiten nicht wahrnehmen lassen, erfolgt erst, wie das auch REICHENOW für *Karyolysus* abgebildet hat, durch Streckung; beim Trennen und Auseinanderweichen der Hälften bleibt dann ein, auch mit DELAFIELD's Hämatoxylin deutlich nachweisbarer Faden vorhanden. Die Zahl der Merozoiten läßt sich in den Schnittpräparaten nicht ohne weiteres genau feststellen. Doch dürfte sie meist zwischen 8 und 20 schwanken. Die jungen Merozoiten zeigen ebenfalls den beschriebenen Kernbau. Die Befruchtung erfolgt, wie es für die Adeleiden typisch ist, durch Anlegen des Microgametocyten an den runden großen Macrogametocyten, in dessen Kern sich der sehr stark färbbare exzentrisch gelegene Randkörper und neben diesem ein meist halbmond- bis sichelförmig gestalteter, weniger stark färbbarer Chromatinfleck nachweisen läßt. Eine Reduktion am Macrogameten konnte nicht beobachtet werden. Das Eindringen eines der 4 Microgameten in den Macrogameten habe ich in meinen Präparaten mehrfach zu verfolgen Gelegenheit gehabt, doch sind mir bisher die genaueren Vorgänge bei der Kernverschmelzung und der ersten Kernteilung entgangen, da sich diese Vorgänge im Schnittpräparate weniger klar zeigen lassen, als im Ausstrichpräparate, dessen Herstellung aber bei der Festigkeit der Umhüllung der Malpighischen Gefäße meist nur mangelhaft gelingt. Die Zygote, die einen Durchmesser von 16—20  $\mu$  hat, zeigt nun rapide Kernvermehrung und die Bildung einer einzigen doppelkonturierten Hülle, die nicht sehr dick ist; die Bildung einer zweiten Hülle habe ich bisher nicht beobachten können, obgleich ich mehrfach den Kot infizierter Flöhe untersucht habe, weil er meist keine oder nur wenige Cysten enthält. Die Zahl der gebildeten schlanken, bis über



20  $\mu$  langen, 2—3  $\mu$  breiten Sporozoiten mag manchmal bis 60 betragen. Ihr Kern besteht nur aus unregelmäßig besonders an der Peripherie verstreuten, kleinen Chromatinbröckchen und hat eine ovale Gestalt. Ein Randkörper läßt sich nicht nachweisen. Die Einzelheiten mögen die beigegebenen Zeichnungen illustrieren.

### 5. *Nosema pulicis* NÖLLER 1912.

Dieser von mir in Berlin bei ca. 6 Proz. der untersuchten Hundeflöhe aufgefundene Parasit konnte in München bisher nicht wieder gefunden werden, obgleich ich auch hier schon eine große Reihe von Flöhen seziert habe. Deshalb beschränke ich mich auf

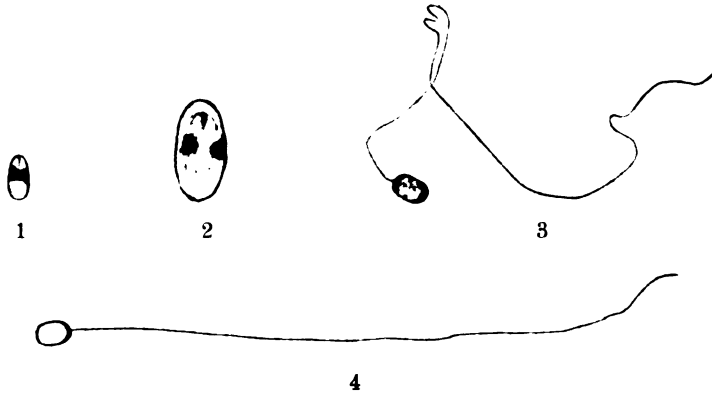


Fig. 3. Sporen von *Nosema pulicis*.

1. Färbung nach HEIDENHAIN. 1950  $\times$ . 2. GIEMSA. 2700  $\times$ .  
3 u. 4. Polfäden ausgeschnellt. GIEMSA. 1300  $\times$ .

die Beigabe einiger Zeichnungen und Mikrophotogramme, die nach in Berlin angefertigten Präparaten hergestellt sind. (Beschreibung im Bd. 25 S. 396. Taf. 23 Fig. 3 u. 4. Textfig. 3.)

### 6. *Malpighiella refringens* MINCHIN.

Dieser von MINCHIN entdeckte Parasit der malpighischen Gefäße des Rattenfloh ist in München beim Hundefloh ebenso häufig anzutreffen wie in Berlin (bei ca. 90 Proz.). Ich glaube nicht, daß er zu den Amöben zu stellen ist wie MINCHIN will, weil er ja keine geformte Nahrung aufnimmt.

### Weitere eigene Untersuchungen über die Übertragungsweise der Rattentrypanosomen durch Flöhe.

#### 1. In welchem Infektionsstadium der Ratte infizieren sich die Flöhe am leichtesten mit Rattentrypanosomen?

Bereits SCHAUDINN hat bei seinen Untersuchungen über die Übertragungsweise der Trypanosomen des Steinkauzes den Formen der Trypanosomen, welche sich gerade im Blute der Eule befanden, besondere Aufmerksamkeit entgegengebracht und wußte auch schon, daß sich gewisse Trypanosomenformen im Überträger nicht entwickeln.<sup>1)</sup> In der späteren Zeit ist aber dann der Umstand, in welchem Infektionsstadium sich das zu den Versuchen benutzte Wirbeltier gerade befand, meist vernachlässigt worden. Nur BALDREY hat bei seinen Übertragungsversuchen die Rattentrypanosomen durch die Rattenlaus gefunden, daß eine „Entwicklung“ in der Laus nur dann stattfindet, wenn sich die Ratte noch in der Vermehrungsperiode der Trypanosomen befindet und daß eine Entwicklung ausbleibt, wenn die Infektion der Ratte bereits in das chronische Stadium übergegangen ist, währenddessen Teilungsformen im peripheren Blute fehlen. Bei den Glossinen war es dann eine bekannte Tatsache, daß bei Übertragungsversuchen stets nur ein geringer Prozentsatz der benutzten Schlafkrankheitsfliegen eine dauernde Infektion mit Trypanosomen erwarb (KLEINE u. a.). ROBERTSON, die in Uganda das Problem der Glossinenübertragung in Angriff genommen hat, hat dabei mit Nachdruck darauf hingewiesen, daß es nicht gleichgültig sei, welche Trypanosomen gerade im Blute zirkulieren.<sup>2)</sup> Sie glaubt, daß die Infektion der Glossinen von bestimmten Formen (den kurzen Trypanosomen), die im peripheren Blute des gestochenen Tieres zirkulieren müssen, abhängig sei, und daß während anderer Perioden, während deren nach ihrer Ansicht sich die Trypanosomen in einer Art Depression befinden, eine Infektion der Glossinen nicht möglich ist. Ich fand 1912 bei meinen Versuchen, das Froschtrypanosoma durch den Egel *Hemiclepsis marginata* zu übertragen, daß sich die Kaulquappentrypanosomen, die sich

<sup>1)</sup> Leider lassen sich aus den Angaben SCHAUDINN's keine sicheren Anhaltspunkte gewinnen, weil er Entwicklungsformen von Trypanosomen und von Hämosporidien (*Haemoproteus noctuae*) verwechselt hat.

<sup>2)</sup> Vorher hat schon TODD auf diesen Punkt hingewiesen.

durch ihre Form von den bei den erwachsenen Fröschen vorkommenden mehr oder weniger veränderten Trypanosomen unterscheiden, aber sicher deren Jugendformen darstellen, die bei frischer Infektion vorkommen, in 100 Proz. der Egel entwickelten, die auf infizierten Kaulquappen gesogen hatten. Ließ ich dagegen die Egel auf erwachsenen Fröschen mit alter Infektion, bei der die Trypanosomen weitgehend verändert sind, Blut aufnehmen, so entwickelten sich die Trypanosomen in keinem Falle in dem Egel, obgleich die Versuche in ganz der gleichen Weise und bei ganz der gleichen Temperatur vorgenommen wurden wie die Versuche mit Kaulquappen. Deshalb schien es mir geraten, zu prüfen, ob sich die Flöhe auf frisch infizierten Ratten leichter infizieren, als auf chronisch infizierten.

Zu diesem Zwecke wurden aus der Hundeflohzucht, in der bei den Flöhen eine Infektion mit Trypanosomen nicht vorkommt, 3 Versuchsföhe Nr. 6, 7 und 8, gefesselt und in der beschriebenen Weise am 3. II. 14 auf der am 26. I. 14 intraperitoneal mit Trypanosomen gespritzten Ratte Nr. 6 gefüttert. Der Saugakt dauerte über 1 Stunde. An den folgenden Tagen wurden die Versuchsföhe 6—8 stets 1—2 Stunden auf weißen, nicht infizierten Vorratsratten gefüttert. Am 10. II. wurden die Flöhe seziiert und genau zunächst im ungefärbten Präparat, dann im gefärbten Trockenausstrich untersucht. Die Flöhe 6 und 7 zeigten in ihrem Dünndarm Rosetten und Flagellatenpolster und zwar beim Versuchsfloh 7 nur unmittelbar hinter dem Pylorus an der Dünndarmwand, während sich in dem hinteren Dünndarmabschnitte keine Flagellaten befanden. Im Rektum sah ich einzelne bewegliche Trypanosomen, die aber nicht angeheftet waren, sondern scheinbar nur von der Pyloruskrause abgeschwemmt waren. Der Versuchsfloh 6 zeigte das Flagellatenpolster in dem ganzen Dünndarm von der Einmündung der Malpighischen Gefäße bis zur Einpflanzung des Dünndarms ins Rektum hin. Die Flagellaten erwiesen sich bei der Untersuchung im Ausstrich in der größten Menge, als die sog. kleinen Trypanosomen von SWELLEN-GRABEL und STRICKLAND. Der Versuchsfloh 8, dessen Darm eingebettet und geschnitten wurde, zeigte das Flagellatenpolster ebenfalls im ganzen Dünndarm, im Rektum dagegen nicht. Die Untersuchung der Schnitte im gefärbten Präparat ergab, daß es sich wirklich um Trypanosomen und nicht um Ruhestadien der *Leptomonas ctenocephali* handelte, weil die Flagellaten viel länger gestreckt sind und den Blepharoplast nach dem Darmlumen hin zeigten, während er bei der *Leptomonas*-Infektion der Wand des Dünndarmes zu gelegen

ist. 3 weitere Versuche wurden mit den gefesselten Hundeflöhen 9 und 10 und mit dem gefesselten Hühnerfloh Nr. 3 durchgeführt. Diese 3 Flöhe sogen am 10., 11. und 12. II. 14 auf der am 24. XI. 13 intraperitoneal gespritzten Ratte Nr. 2, die sich also im chronischen Infektionsstadium befand, aber im Blute noch ziemlich viele Trypanosomen zeigte. An den folgenden Tagen wurden die Flöhe auf nicht infizierten Ratten gefüttert und am 16. II. 14 zerlegt und genau untersucht. Die Versuchsflöhe 9 und 10 zeigten wohl eine schwache Infektion mit *Leptomonas ctenocephali*, aber keine kleinen Trypanosomen in ihrem Dünndarme. Der Hühnerfloh 3 zeigte in seinem Dünndarme überhaupt keine Flagellaten. Obgleich also diese Flöhe dreimal gesogen hatten, zeigten sie ebenso wie einige weitere Flöhe, die auch auf Ratte 2 in gleicher Weise gefüttert worden waren, bei ihrer Sektion keine Infektionen mit *Trypanosoma lewisi*, während es bei frischer 8 tägiger Infektion durch einen einstündigen, einmaligen Saugakt bei den Versuchsflöhen 6, 7 und 8 gelungen war, eine Infektion des Flohes zu erzeugen. Dieses Versuchsergebnis spricht deutlich dafür, daß die Infektion der Flöhe am besten gelingt, wenn sich die Ratte noch im frischen Infektionsstadium befindet und daß ähnlich wie bei meinen Versuchen mit dem Froschtrypanosoma es auch bei chronischer Infektion der Ratte viel schwerer gelingt, den Überträger zu infizieren. Wahrscheinlich liegen bei den durch Glossinen übertragenen Trypanosomen ähnliche Verhältnisse vor und es wäre von Interesse, wenn jene Überträger der pathogenen Trypanosomen auch in dieser Hinsicht einmal untersucht würden.

## 2. Nachträge zu der nichtinfektiösen Periode.

Durch MINCHIN und THOMSON war gezeigt worden, daß die Flöhe nach dem infizierenden Saugakte eine Zeit von ungefähr 6 Tagen brauchen, ehe sie die Ratten, auf denen sie sitzen, infizieren können. Für diese Periode, die nach meinen Untersuchungen in besonders günstigen Fällen nur 4 Tage betragen kann, hatte ich 1912 die Erklärung gegeben, daß die Trypanosomen sich im Dünndarme des Flohes erst so weit vermehren müßten, bis sie auf den Dünndarmwänden ein richtiges Polster bilden, das der Kotentleerung einen gewissen Widerstand entgegengesetzt. Erst, wenn dieses Polster gebildet ist, was nach 4—6 Tagen geschehen ist, werden mit dem Kot stets große Massen von Trypanosomen losgerissen und gelangen nach außen auf die Ratte, von deren Zungenschleimhaut aus sie dann in den Rattenkörper eintreten. Während sich ein Referat im Sleeping

Sickness Bulletin Bd. 4, H. 38 über diese Erklärungsweise sehr skeptisch aussprach, ist diese Erklärung jedoch im Jahre 1912 noch durch WENYON angenommen worden. Ich habe schon 1912 darauf hingewiesen, daß der kritische Zeitpunkt für die Infektion des Flohes ungefähr in der 24. Stunde nach dem infizierenden Saugakte liegt. Während der Magen dann in der Regel schon von den Trypanosomen gereinigt wird, bleiben im Floh nur die Trypanosomen, denen es gelungen ist, sich im Dünndarm festzuheften. Ihre Zahl kann zu diesem Zeitpunkte außerordentlich klein sein. Bei einem damals in Berlin zerlegten Floh fand ich nur im Rektum 3 angeheftete Trypanosomenexemplare, im ganzen Dünndarm nichts. In München habe ich einen Floh zu jenem Zeitpunkte zerlegt, welcher in der Mitte des Dünndarmes im ganzen nur 2 angeheftete Trypanosomen zeigte. Erst wenn deren Vermehrung nun soweit fortgeschritten ist, daß die Trypanosomen ein dickes Polster auf der Dünndarmwand bilden, werden sie mit dem Kote ausgeschieden. Daß dieses Polster in der Tat schon am 6. Tage eine ziemlich große Ausdehnung erreichen kann, mögen die beigegebenen Mikrophotogramme vom Versuchsfloh Nr. 8 beweisen (Taf. 23 Fig. 5 u. 6).

Wenn auch eine Entscheidung darüber, ob erst die Trypanosomen sich anheften können, welche im Epithel des Magens eine intracelluläre Vermehrung durchgemacht haben, nicht direkt möglich ist, so bin ich neuerdings doch der Ansicht geworden, daß die von MINCHIN und THOMSON entdeckte intracelluläre Vermehrungsweise der Trypanosomen im Magenepithel diese für die Anheftung dadurch geeignet macht, daß sie ihre Oberfläche klebrig macht.

## 2. Die Übertragung der Rattentrypanosomen durch die Rattenlaus *Haematopinus spinulosus* BURM.

Die Übertragungsweise der Rattentrypanosomen ist vor allem durch v. PROWAZEK (1905), BALDREY (1909), MANTEUFEL (1910), GONDER (1912) und nach mündlichen Mitteilungen von BENSEN und JOLLOS untersucht worden. V. PROWAZEK gibt 1905 an, daß die Trypanosomen im Magen der Laus eine geschlechtliche Entwicklung durchmachen. Kompaktere dickere Formen sollen mit schlanken Formen mit auseinandergezogenem Kerne verschmelzen und aus der Verschmelzung soll ein geißelloser Ookinet hervorgehen. Die Formen sind von PROWAZEK gut abgebildet worden. Im späteren Verlaufe

soll es in der Laus zur Bildung von leptomonasartigen Flagellaten kommen; eine intracelluläre Vermehrung wurde im Magen nicht beobachtet. Dagegen beschreibt PROWAZEK eingehend die Stellen, an denen sich die Flagellaten im Enddarme der Laus in großen Mengen anzusammeln pflegen. Aus der Beobachtung, daß von diesen Stellen aus die Flagellaten manchmal bei fortgesetzter Beobachtung der Laus unter dem Mikroskope verschwinden können, schließt er, daß die Trypanosomen durch die Darmwand in die Leibeshöhle der Laus hinüberwandern können und glaubt, daß die Infektion dadurch geschieht, daß die Trypanosomen aus dem Blutgefäßsystem der Laus beim Stechakte in den Pharynx durchbrechen und in die Stechwunde gelangen können. Die experimentelle Übertragung der Rattentrypanosomen durch Läuse ist v. PROWAZEK nicht gelungen. BALDREY hat 1909 mit Läusen Serienversuche nach den Angaben HARTMANN'S im Institute für Infektionskrankheiten zu Berlin mit Rattentrypanosomen durchgeführt und es ist ihm in der Tat bei Verwendung mehrerer Läuse mehrfach gelungen, eine Übertragung der Trypanosomen zu erzielen. Die Übertragung gelang nur bei den Ratten, auf die er die Läuse erst nach Ablauf von 5—10 Tagen nach dem Saugakte auf infizierten Ratten setzte. Die Entwicklungsformen, die v. PROWAZEK beschrieben hatte, sah er zum Teil wieder und bildet auch wieder ein „Befruchtungsstadium“ ab. Er gibt an, daß sich die Entwicklungsformen in der Laus nur vorfinden, wenn sich die Ratte noch nicht im chronischen Stadium der Typanosomeninfektion befindet. Im chronischen Stadium findet nach ihm eine Entwicklung in der Laus nicht statt. MANTEUFEL hat dann 1910 versucht, durch Läusekot die Trypanosomen zu übertragen, ohne daß es ihm jedoch gelang. RODENWALDT hat, nachdem SWELLENGREBEL und STRICKLAND das Vorkommen der Entwicklungsformen in der Laus angezweifelt hatten, die Frage daraufhin durchgeprüft und es ist ihm gelungen, alle v. PROWAZEK gefundenen Entwicklungsformen wieder zu sehen. Er gibt davon auf mehreren Tafeln eine Reihe von Abbildungen. GONDER hat 1912 die Rattentrypanosomen unter 50 Versuchen mit je 60—100 Läusen sechsmal übertragen und zwar nur nach Ablauf der von BALDREY angegebenen nicht infektiösen Periode, d. h. nachdem die Läuse 5—10 Tage vorher das letztmal auf infizierten Ratten gesogen hatten, danach nur auf gesunden Ratten. Über den Übertragungsmechanismus macht er keine Angaben, schließt sich aber an die Erklärungen PROWAZEK'S und BALDREY'S an, indem er das Vorhandensein einer geschlechtlichen Entwicklung verneint. Er gibt an, daß man mit

Läuseemulsion auch in den ersten Tagen Ratten infizieren kann, während nach mehr als 20 Tagen nach dem infizierenden Saugakte Infektionen mit Läusen nicht mehr möglich sind. Mit gleichem Erfolge wie durch BALDREY sind späterhin auch durch BENSEN und JOLLOS positive Übertragungsversuche mit Läusen vorgenommen worden (mündl. Mitteilung).

### **Eigene Untersuchungen über die Übertragungsweise der Rattentrypanosomen durch Läuse.**

#### **1. Das Vorkommen von Entwicklungsformen.**

Nachdem die v. PROWAZEK als Entwicklungsformen bezeichneten vom Rattentrypanosoma aus dem Rattenblute abweichenden Formen von BALDREY u. RODENWALDT wiedergesehen worden waren, fiel es mir nicht schwer auch fast sämtliche der von jenen Autoren gesehenen Formen in der Laus wieder aufzufinden. Zu meinen Versuchen wählte ich stark verlauste und nicht mit Trypanosomen infizierte Ratten, die durch intraperitoneale Einspritzungen infiziert wurden. Es zeigte sich bald, daß, wie schon BALDREY angibt, das Vorkommen von Entwicklungsformen in der Laus auf bestimmte Infektionsstadien der Ratte beschränkt ist. Während es mir bei Ratten mit über 2 Monate alter Infektion nicht gelang, in der Laus die Entwicklungsformen zu finden, traf ich sie in großer Menge besonders in den Läusen von Ratten, die vor 8—14 Tagen mit Trypanosomen gespritzt worden waren. Eine Befruchtung im Leben zu verfolgen, ist mir bis heute nicht gelungen. Die Beobachtung im Leben bildet jedoch für das Vorhandensein einer Befruchtung die unerläßliche Vorbedingung und solange es keinem Forscher einwandfrei gelungen ist, die Verschmelzung und nachfolgende Teilungen bei Trypanosomen im Überträger einwandfrei zu verfolgen, bleibt die Frage nach dem Vorkommen eines Geschlechtsaktes bei den Trypanosomen ungelöst. Bis heute sind überzeugende Beweise dafür nicht erbracht worden. Was die Morphologie der sog. Entwicklungsformen anbetrifft, so finden sich im Läusemagen sowohl bei frisch von der Ratte abgelesenen Läusen, wie auch bei Läusen, die schon 24—48 Stunden gehungert haben, neben den am häufigsten vorkommenden unveränderten Trypanosomen ohne Schwierigkeit alle jene wieder, die v. PROWAZEK u. RODENWALDT abgebildet haben. Besonders häufig tritt anfangs eine lange schlanke Form auf, deren Kern zum Blepharoplast hin nach hinten oder sogar noch über den Blepharoplast hinausrückt, so daß also eine echte

Crithidiaform entsteht. Dann finden sich auch leptomonasartig gebaute Flagellaten ohne deutliche undulierende Membran und auch ovale Formen, welche keine Spur von der Geißel mehr zeigen. Daß die Leptomonas- und Crithidiaformen wirklich von den Trypanosomen abzuleiten sind und nicht, wie PATTON meinte, von eigenen Flagellaten der Laus, geht daraus hervor, daß es mir bisher ebensowenig wie RODENWALDT u. BALDREY gelungen ist, in Läusen von nicht-infizierten Ratten oder von chronisch infizierten irgend welche derartige Flagellaten aufzufinden.

## 2. Wo finden sich die Trypanosomen in der Laus?

Da bei den Übertragungsversuchen mit Läusen die von mir bei den Flöhen angewandte Methode der Einzelbeobachtung und Einzeluntersuchung des Überträgers nicht durchführbar war, weil die Infektionsversuche überhaupt nur mit großen Mengen von Läusen und auch dann nur ausnahmsweise gelingen (GONDER braucht für einen gelungenen Übertragungsversuch durchschnittlich 480—800 Läuse), so war ich um eine Klärung des Übertragungsmechanismus herbeizuführen, auf die Untersuchung von unter verschiedenen Bedingungen von der Ratte abgesammelten Läusen angewiesen. Da sich die sehr kleinen und außerordentlich durchsichtigen Läusemännchen unter dem Mikroskop ohne Schwierigkeit auch mit den stärksten Vergrößerungen untersuchen lassen, so gelang die Feststellung des Sitzes der Flagellaten leicht. Läuse von Ratten mit sehr alter Infektion zeigten in ihrem Magen und Dünndarm in der Regel überhaupt keine Flagellaten. Läuse von Ratten mit nur 8—14 Tage alter Infektion, zeigten dagegen die Trypanosomen stets in großer Menge, und zwar genau an den Stellen, die v. PROWAZEK in seiner ausführlichen Arbeit angegeben hat. Der Magen schwärmte von Trypanosomen und zwar in allen seinen der Wand zu gelegenen Teilen. Besondere Anhäufungen fanden sich manchmal am Mageneingange, wenn dort das Blut schon aufgelöst war. Im ectodermalen Enddarme fanden sich die Trypanosomen frei beweglich im Lumen des Ileum, Colon und Rektum bis hinter den Rektaldrüsen. Besonders wimmelte meist die Pylorusgegend. Hier bildeten die Flagellaten, wie das v. PROWAZEK angibt, oft einen wimmelnden Schwarm. Eine dauernde Festheftung konnte ich jedoch auch hier nicht verfolgen. In den Stechwerkzeugen der Laus habe ich nie Trypanosomen auffinden können, ebensowenig im Blute nichtverletzter Läuse. Wie nun die Trypanosomen aus der Laus nach außen gelangen, zeigte mir schon die Lebendbeobachtung unter



dem Mikroskope. Man kann bei Läusemännchen sehr oft beobachten, wie mit den Kontraktionswellen des Enddarmes die Trypanosomen von einer Stelle zur anderen geführt werden. Die Beobachtung erklärt ohne weiteres die Beobachtung v. PROWAZEK'S, der gesehen hatte, daß die im Dünndarme sich ansammelnden Trypanosomen gelegentlich verschwinden. Einmal gelang es mir auch unter dem Mikroskope die Kotabgabe der Laus zu beobachten, und mit den in die umgebende physiologische Kochsalzlösung hinausgeschwemmten Kotpartikelchen sah ich dabei die Trypanosomen ausgestoßen werden. Noch einfacher kann man sich davon überzeugen, daß die Läuse mit ihrem Kote Trypanosomen abgeben, wenn man einige Läuse von infizierten Ratten zwischen einen Objektträger und einen hohl geschliffenen Objektträger über Nacht zusammensperrt. Am anderen Tage haben die Läuse auf den Objektträger stets mehrere Kottröpfchen abgegeben, die bei der Untersuchung im Giemsa-trockenpräparate fast stets Trypanosomen zeigen. Wenn MANTEUFEL und mir bisher eine experimentelle Infektion mit den Kottröpfchen noch nicht gelungen ist, so dürfte das nur daran liegen, daß die außerordentlich kleinen Kottröpfchen der Laus fast augenblicklich nach ihrer Abgabe trocknen, wobei die Trypanosomen naturgemäß absterben. Immerhin werden weitere Versuche später schließlich auch hier positive Ergebnisse zeitigen. Daß die Übertragung durch Läuse aber nur durch den Kot und eventuell durch Verschlucken der Läuse geschehen kann und nicht durch den Stechakt, ist mir nach diesen Ergebnissen sicher, da sich in den Stechwerkzeugen bei den Läusen nie Trypanosomen auffinden lassen und für das Vorkommen einer Regurgitation der Trypanosomen aus dem Läusemagen nicht der geringste Beweis vorliegt.

Wie verhält es sich nun mit den Angaben v. PROWAZEK'S über das Vorkommen von Trypanosomen in der Leibeshöhle und im Blutgefäßsystem der Laus? Da dort v. PROWAZEK mit aller Sicherheit Trypanosomen im Schnitt und im Leben nachgewiesen haben will, so waren mir diese Angaben eine Nachprüfung wert. Nachdem ich lange vergeblich nach Trypanosomen im Blutgefäßsystem der Laus gesucht hatte, gelang mir vor kurzem mit einem Male die Beobachtung derselben. Eine Laus, deren Magen an einer Stelle eine kleine Verletzung, die sich kaum bei guter Untersuchung auffinden ließ, aufwies, zeigte die Trypanosomen überall in der Leibeshöhle einzeln und lebhaft beweglich, im ganzen Thorax, im Kopfe und selbst in den proximalen Fühlgliedern. Daß die Trypanosomen aber wirklich nur durch eine Verletzung des Magens nach außen gelangt waren,

bewies der Umstand, daß sich im Abdomen neben dem Magen an einer Stelle einige Rattenblutkörperchen auffinden ließen. Mit dieser Beobachtung glaube ich die Befunde PROWAZEK's und die zahlreichen weiteren Angaben anderer Autoren (CHAGAS, KLEINE) erklären zu können. Bei der Schwierigkeit, die kleinen Rattenläuse mit der Pinzette so zu fassen, daß sie nicht verletzt werden, dürften Verletzungen des Magens nicht allzu selten vorkommen, wenn auch ihr Nachweis besonders im Schnitt oft nicht gelingt. In dieser Weise dürfte sich auch die Beobachtung SCHAUDINNS erklären, der bei seinen Untersuchungen über die Übertragungsweise der Trypanosomen des Steinkauzes angibt, daß gelegentlich der Enddarm an der Coloukrümmung von den Trypanosomen durchbrochen wird, die so in das Blutgefäßsystem der Mücke gelangen. Da er durch die Einführung der Trypanosomen aus dem Saugmagen der Mücke beim Beginn des Saugaktes eine brauchbare Erklärung gegeben hat, so dürfte das Vorkommen eines Enddarmrisses nur ein zufälliges sein und für den normalen Übertragungsmechanismus sicherlich keine Bedeutung gewinnen, besonders da der Eintritt aus dem Blutgefäßsystem in den Pharynx noch nicht bewiesen ist.

Da bisher bei allen untersuchten Trypanosomen sich im Überträger die Parasiten nur innerhalb des Darmkanales oder in den durch offene Ausführungsgänge mit ihm verbundenen Anhängseln (Speicheldrüsen) vorfinden, so haben alle Katastrophentheorien, welche einen Durchbruch in die Leibeshöhle annehmen, etwas Gezwungenes an sich, solange nicht in einwandfreier Weise bei irgendeinem Trypanosoma ihr Vorkommen angegeben wird.

### 3. Wie lange halten sich die Trypanosomen in der Laus?

Für die Beantwortung, ob die Laus wirklich nach der Aufnahme von Trypanosomen eine dauernde Infektion erwirbt, ist es von Interesse, zu wissen, wie lange sich die Trypanosomen im Darmkanale der Laus halten, wenn sie inzwischen nur mit nicht infiziertem Rattenblute gefüttert wird. Zu diesem Zwecke habe ich eine Anzahl Versuche mit Mäusen angestellt, auf die ich eine Anzahl Läuse von infizierten Ratten setzte. Doch sind alle diese Versuche fehlgeschlagen, weil die Mäuse in der Regel schon am nächsten Tage alle aufgesetzten Läuse gefressen haben. Bessere Erfolge hatten Versuche mit läusefreien Ratten, auf die ich von infizierten und verlausten Ratten in der Sonne eine größere Menge von Läusen überwandern ließ. Die infizierten Ratten befanden sich am 6. und 7. Tage

der Infektion; trotzdem gelang mir in den zwei und mehr Tage darauf von den neuen Ratten abgelesenen Läusen der Nachweis der Trypanosomen nicht mehr. Bei hungernden Läusen konnte ich dagegen 48 Stunden nach der Abnahme von der Ratte noch massenhaft Trypanosomen im Magen auffinden. Wenn GONDER die Trypanosomen in der Laus noch am 20. Tage nach der Abnahme von den infizierten Ratten nachweisen konnte, so muß ich annehmen, daß er unter besonders günstigen Bedingungen seine Versuche durchgeführt hat. Da er aber angibt, daß er späterhin mit den Läusen nicht infizieren konnte, so liegt darin auch bei GONDER das Zugeständnis, daß die Läuse keine dauernde Infektion erwerben. Da wir aber nach unseren heutigen Kenntnissen von der Trypanosomenübertragung wissen, daß sich die wahren Trypanosomenüberträger für lange Zeit, meist sogar für ihr ganzes Leben infizieren, so kann demnach die Rattenlaus als echter Überträger für das Rattentrypanosoma nicht bezeichnet werden, und die Entwicklungsformen, die sich in der Rattenlaus beobachten lassen, sind teils als Degenerationsformen, teils als eine Art Kulturform aufzufassen, die sich bei der Lebenderhaltung der Rattentrypanosomen in der Laus vorfinden. Daß selbst eine 20 tägige Lebenderhaltung in der Laus noch nicht im Sinne einer Entwicklung gedeutet zu werden braucht, geht schon daraus hervor, daß sich die Rattentrypanosomen im Rattenblute unter besonders günstigen Aufbewahrungsbedingungen wochenlang am Leben erhalten lassen. Für die von BALDREY und GONDER bei ihren Infektionsversuchen beobachtete nicht infektiöse Periode kann ich freilich nach meinen bisherigen Untersuchungen eine Erklärung noch nicht geben.

Da die mit dem Kote der infizierten Flöhe ausgeschiedenen Trypanosomen eine sehr hohe Steigerung ihrer Infektionsfähigkeit zeigen, so wäre bei der Laus, falls sie ein echter Überträger des Rattentrypanosomas wäre, in dem eine Entwicklung vorkommt, auch hier eine Virulenzsteigerung zu erwarten. Das ist aber bei der Schwierigkeit, mit Läusen zu infizieren, sicher nicht der Fall, denn während bei den Flöhen ein einziges trypanosomenhaltiges Kottröpfchen genügt, um durch die gesunde Schleimhaut der Zunge hindurch eine Infektion herbeizuführen, sind für jeden Übertragungsversuch mit Läusen sehr große Mengen derselben nötig.

### 3. Übertragungsversuche durch andere blutsaugende Insekten.

BRUMPT hat 1913 festgestellt, daß sich das Rattentrypanosoma auch durch den Kot der Bettwanze übertragen läßt, nachdem sie vorher Trypanosomen aufgenommen hat. Obgleich es ihm gelungen ist, mit dem Rektalinhalte einer Wanze Ratten zu infizieren, die vor 6 Tagen das letztmal infiziertes Rattenblut aufgenommen hatte, stellt er jedoch fest, daß die Wanzen nicht mehr infizieren können, sobald die in ihrem Darmkanal befindlichen Trypanosomen eine von ihrer gewöhnlichen Form abweichende Gestalt angenommen haben, glaubt aber trotzdem, daß eine wirkliche Entwicklung stattgefunden habe („il y avait eu certainement une évolution cyclique totale chez cette punaise“[?]). Doch macht er über die angebliche Entwicklung der Trypanosomen in der Wanze überhaupt keine brauchbaren Angaben.

#### Eigene Untersuchungen.

Da mir im Winter hier genügend Bettwanzen zu meinen Versuchen nicht zur Verfügung standen, versuchte ich das Verhalten der Rattentrypanosomen in der Kuhstallfliege (*Stomoxys calcitrans*) und in der Schaflausfliege, der sog. Schaflaus (*Melophagus ovinus*) zu untersuchen. Die Wadenstecher starben in dem geheizten Zimmer im Winter meist schon in den nächsten Tagen ab, so daß ich mit ihnen längere Serienversuche nicht durchführen konnte. Diejenigen Exemplare, welche Blut gesogen hatten (und zwar von Ratten mit nicht über 14 Tage alter Infektion) zeigten bei der Zerlegung nach 24 Stunden in ihrem Magen keine Trypanosomen mehr. (Die Zimmertemperatur betrug durchschnittlich 25° C bei Tage.)

Die Schafläuse haben für die Übertragungsversuche den Nachteil, daß sie alle schon mit einem trypanosomenähnlichen Flagellaten mit deutlicher undulierender Membran, der *Crithidia melophagia* FLU, infiziert sind. Die Aufzucht flagellatenfreier Exemplare aus Puppen gelang mir im Winter nicht, während sie mir im Sommer ebenso wie CHATTON, DELANOE und CAUCHEMEZ mehrfach gelungen ist. Da sich die Schaflaus nach BRUMPT wochenlang von Menschenblut und Taubenblut nähren läßt, so war zu erwarten, daß sie auf Ratten ebenso leicht Blut aufnehmen würde. Und in der Tat gelingt es ohne weiteres, Schafläuse, welche 24 Stunden lang gehungert haben, auf den festgespannten Ratten zur Blutaufnahme zu bewegen. Die Schafläuse wurden im Zimmer in einem großen Glase auf entfetteter Watte aufbewahrt. An den Deckel des Glases wurde ein Wasser-

tropfen gebracht, damit der Raum die nötige Luftfeuchtigkeit besaß. Die Fütterung geschah auf festgespannten Ratten, auf denen die Schafläuse jeden Tag eine bis zwei Stunden saugen durften. Daß sie wirklich Blut aufnehmen, zeigt schon die Färbung der vorderen Darmabschnitte, die durch die Chitinhülle des Abdomens sichtbar sind und nach der Blutaufnahme eine hellrote Färbung zeigen, während sie vorher dunkelrot bis schwarz erscheinen. Auch gelingt es leicht, bei den saugenden Schafläusen während des Saugaktes Darmkontraktionen zu sehen.

Die Schafläuse Nr. 1—4 wurden am 2. und 3. Februar 1914 auf der Ratte Nr. 6 gefüttert, die am 26. Januar 1914 mit Rattentrypanosomen intraperitoneal gespritzt worden war und in deren Blute sich zahlreiche Teilungsformen neben ausgewachsenen Trypanosomen fanden. Am 4. Februar sogen die Schafläuse auf einer gesunden Ratte, am 5. Februar wurden sie zerlegt, der Darmkanal herauspräpariert, in physiologischer Kochsalzlösung zerzupft und diese Flüssigkeit wurde zur Hälfte der Ratte Nr. 7 intraperitoneal und der Ratte Nr. 8 subkutan eingespritzt. Von den beiden Ratten zeigte die Ratte Nr. 7 am 14. II. zahlreiche Trypanosomen im Blute, während sie am 11. II. noch keine gezeigt hatte. Ein weiterer Versuch wurde mit ungefähr 15 Schafläusen begonnen, die am 4. II. auf einer Ratte sogen, die 10 Tage vorher mit Rattentrypanosomen intraperitoneal gespritzt worden war. Am 5. sogen sie auf der Ratte Nr. 6 (mit ebenfalls 10 tägiger Infektion). An den folgenden Tagen sogen die Schafläuse auf gesunden Ratten bis zum 9. II. 1914; am 10. II. wurden die überlebenden 4 zerlegt, ihr Darmkanal herauspräpariert, in physiologischer Kochsalzlösung zerzupft und zwei Ratten intraperitoneal eingespritzt. In einem Ausstriche von diesem Tage fanden sich in den Schafläusen nur die typischen Schaflauscrithidien; von Trypanosomen war nichts mehr aufzufinden. Die beiden mit dem Darminhalt gespritzten Ratten blieben daher auch trypanosomenfrei.

Bei Schafläusen dagegen, welche länger als 24 Stunden auf infizierten Ratten gesessen und dabei Blut gesogen haben, finden sich in den vorderen Darmabschnitten unveränderte und in interessanter Weise abgeänderte Trypanosomenformen, vor allem nämlich Tiere mit abgerundetem Hinterende, deren Kern ein wenig nach dem Blepharoplaste zu wandert. So gewinnen diese Formen Ähnlichkeit mit den von KLEINE aus den Glossinen beschriebenen Übergangsformen zu den sog. männlichen Formen des Schlafkrankheitserregers. In den nächsten Tagen wird eine Unterscheidung der

Trypanosomen von den Schaflauscrithidien unmöglich, so daß ich bisher über die Dauer des Vorkommens von Trypanosomen in Schaf-läusen, die mit infiziertem Rattenblute genährt wurden, keine ge-nauen Angaben machen kann. Da aber die Infektionsversuche später-hin nicht mehr gelingen, so ist es wahrscheinlich, daß die abweichenden Trypanosomenformen nur absterbende Tiere sind.

Eine Infektion durch den Stich der Schafläuse wurde auch in den ersten Tagen nicht beobachtet. Alle Ratten, auf denen die Schafläuse nach ihrem infizierenden Saugakte sogen, sind trypano-somenfrei geblieben.

#### 4. Versuch einer Einteilung der Trypanosomen nach ihrer Übertragungsweise.<sup>1)</sup>

Bei der Schwierigkeit oder Unmöglichkeit, die Trypanosomen nach rein morphologischen Gesichtspunkten einzuteilen, haben ROUBAUD und nach ihm DUKE bereits für die pathogenen durch Glossinen übertragenen Trypanosomen eine Einteilung nach ihrer Übertragungsweise vorgeschlagen. Nachdem im vorhergehenden gezeigt worden ist, daß auch die Rattentrypanosomen im Floh eine gesetzmäßige Entwicklung durchmachen, und daß die anderen als Überträger in Frage gezogenen Insekten als echte Überträger nicht bezeichnet werden können, soll hier der Versuch gemacht werden, die Trypanosomen in ihrer Gesamtheit von dem Gesichtspunkte ihrer Ent-wicklung im Überträger einzuteilen.<sup>2)</sup> Bekanntlich hat BRUMPT zu-

<sup>1)</sup> Diese Einteilung soll dazu anregen, das Verhalten im Überträger mehr als bisher mit zur Trennung der einzelnen Trypanosomenarten heranzuziehen. Natürlich dürfen dabei die anderen Merkmale wie Morphologie und Tierpathogenität nicht vernachlässigt werden.

<sup>2)</sup> Die Frage, ob ein Trypanosoma in ganz verschiedenen (nicht zu derselben Gruppe) gehörigen Blutsaugern eine echte Entwicklung durchmachen kann, ist bisher noch nicht genug geklärt. Das *Schizotrypanum cruzi* „entwickelt“ sich nach BRUMPT und NEIVA außer in den als natürliche Überträger anzusehenden Wanzenarten (Reduviiden und Cimiciden) auch in Zecken (*Ornithodoros moubata* und *Rhipicephalus sanguineus*). Ob aber die angebliche Entwicklung in den Zecken wirklich als eine gesetzmäßige Entwicklung aufzufassen ist oder als bloße Lebenderhaltung, darüber geben die mangelhaften Angaben BRUMPT's keinen Auf-schluß. Ebenso fraglich ist es nach den kurzen und ungenügenden Angaben BRUMPT's, ob die Bettwanze das Rattentrypanosoma in ihrem Darmkanal nur am Leben erhält oder ob wirklich eine Entwicklung vorkommt, für die aber noch

erst die Ansicht vertreten, daß die Trypanosomen von Leptomonaden und Crithidien, also spezifischen Insektenparasiten, die Trypanosomen der Kaltblütler von parasitischen Flagellaten der Egel abzuleiten sind. Er fand in einem Egel *Helobdella algira* ein *Trypanosoma* (*T. inopinatum*), das sich ohne Zwischenschaltung des Wirbeltierwirtes, des Wasserfrosches, auf die Nachkommenschaft des Egels vererben kann. Hier spielt also der Egel die Rolle des Hauptwirtes, das Wirbeltier nur die Rolle eines entbehrlichen Nebenwirtes. Leider sind diese wichtigen Feststellungen in neuerer Zeit nicht nachgeprüft worden, was dringend nötig wäre, weil dieser Befund einen wichtigen Beweisgrund für die Ableitung der Trypanosomen von Parasiten der blutsaugenden Wirbellosen bildet. Der Theorie von BRUMPT gegenüber steht die, welche in den Trypanosomen und Trypanosomenähnlichen primäre Parasiten der Wirbeltiere sieht, die sich erst sekundär an den wirbellosen Überträger angepaßt haben (MINCHIN). Heute hat die erste Theorie die meiste Wahrscheinlichkeit, wenn auch das *Trypanosoma equiperdum* zu seiner normalen Verbreitung überhaupt keines Überträgers bedarf.

Die neueren Forschungen haben immer mehr gezeigt, daß die Trypanosomen nicht artspezifisch an den wirbellosen Überträger angepaßt sind, wie man ursprünglich in Analogie mit den intracellulären Blutprotozoen anzunehmen geneigt war. So entwickeln sich, wie besonders die Forschungen KLEINE'S und seiner Mitarbeiter zeigen, die menschenpathogenen Trypanosomen in verschiedenen Glossinen, die Rattentrypanosomen, wie auseinandergesetzt, in verschiedenen Floharten usw. Doch sind die Überträger, in denen eine Entwicklung stattfindet, auf enge Gruppen verteilt, so daß eine Einteilung nach der Entwicklung im Überträger wohl möglich ist.

Wenn wir versuchen die Trypanosomen nach ihrer Entwicklung im Überträger einzuteilen, so lassen sich zwanglos folgende Gruppen unterscheiden:

1. Die durch Egel übertragenen Trypanosomen;

- a) die Gruppe des *Trypanosoma inopinatum*; dieses Trypanosoma ist ein echter Parasit des Egels *Helobdella*, auf dessen Nachkommenschaft er sich nach BRUMPT vererben kann;

---

kein Beweis vorliegt. Die Rattenlaus kommt, wie ich auseinandergesetzte, als echter Überträger nicht in Frage. Nur Flöhe sind bisher als echte Überträger erwiesen.

b) auf die Nachkommen der Egel nicht vererbare Trypanosomen.

1. Die Trypanosomen der Meeresfische und der Schildkröten, deren erste Teilung im Egel im abgekugelten geißellosen Zustande verläuft (BRUMPT, ROBERTSON).
2. Die Trypanosomen der Süßwasserfische und wahrscheinlich auch die Trypanosomen der Kaulquappen (Anuren)<sup>1)</sup> und Molche (Urodelen), deren erste Teilung im Egel im geißeltragenden Zustande verläuft.

Die durch Egel übertragenen Trypanosomen entwickeln sich im Magen (oder im Magen und Darm) des Egels und dringen nach Ablauf der Vermehrungsperiode in die Rüsselscheide vor. Die Infektion des Wirbeltieres geschieht beim Saugakte durch Einpressen der Rüsselscheidentrypanosomen in die Saugwunde.

2. Durch Arthropoden übertragene Trypanosomen. Von den Arthropoden sind nur die Insekten und zwar hier Flöhe, Wanzen und Zweiflügler<sup>2)</sup> als Trypanosomenüberträger mit Sicherheit bekannt geworden. Die Flagellaten, welche aus blutsaugenden Milben (Zecken) bekannt geworden sind (*Tryp. christophersi* NOVY, *Crithidia haemophysalidis* PATTON und *Cr. hyalommae* O'FARRELL), sind wahrscheinlich spezifische Zeckenparasiten. Die von GONDER in der Milbe *Leio gnathus* aufgefundenen angeblichen Entwicklungsstadien der Fledermaustrypanosomen sehen viel eher wie Degenerationsformen aus.

2a) Die durch Flöhe übertragenen Trypanosomen. Zu dieser Gruppe (*Lewisi*-Gruppe) gehören:

- Tryp. lewisi* (NÖLLER 1912),  
*Tryp. criceti* (NÖLLER 1912),  
*Tryp. duttoni, nabiasi, blanchardi* (BRUMPT 1913)

und wahrscheinlich die

*Tryp. talpae, vespertilionis* und *pestanai*.

Die durch Flöhe übertragenen Trypanosomen entwickeln sich in der Regel leicht in verschiedenen Floharten; ihre Ansiedlung im Überträger erfolgt in dem ectodermalen Enddarme. Die Übertragung

<sup>1)</sup> Die ersten Teilungen im Überträger wurden bei Amphibientrypanosomen noch nicht beobachtet.

<sup>2)</sup> Läuse sind als Überträger, in denen eine echte Trypanosomenentwicklung stattfindet, noch nicht erwiesen. Sie können höchstens als mechanische Verbreiter von Trypanosomen in Frage kommen: *Haematopinus spinulosus* beim Rattentrypanosoma und *Haematopinus bituberculatus* nach MITZMAIN beim Surratrypanosoma (*T. evansi*).



geschieht durch mit dem Kote ausgeschiedene Trypanosomen. Speicheldrüseninfektion findet nicht statt.

2b) Die durch Wanzen übertragenen Trypanosomen (die Schizotrypanumgruppe) *Schizotrypanum cruzi*. Die Infektion kann hier den ganzen Darm des Überträgers ergreifen, den ectodermalen Vorderdarm, den Mitteldarm und den ectodermalen Enddarm. Die Speicheldrüsen können infiziert werden (CHAGAS), doch ist auch eine Infektion durch den abgegebenen Kot möglich (BRUMPT).

2c) Die durch Dipteren übertragenen Trypanosomen. Von den Dipteren werden die meisten afrikanischen, asiatischen und amerikanischen pathogenen Trypanosomenarten übertragen. Die durch Glossinen übertragenen und genau erforschten Trypanosomen hat ROUBAUD bereits nach ihrer Übertragungsweise eingeteilt:

Eine Infektion des Darmes und des Stechrüssels erzeugen im Überträger (Zusammenstellung nach DUKE):

*Tryp. congolense*,  
*Tryp. pecorum*,  
*Tryp. nanum*,  
*Tryp. pecaui* = *T. brucei*.

Nur den Darm und die Speicheldrüsen infizieren:

*Tryp. gambiense*,  
*Tryp. rhodesiense*.

Nur den Rüssel infizieren:

*Tryp. vivax*,  
*Tryp. uniforme*,  
*Tryp. cazalboui*.

Über die Übertragungsweise der wahrscheinlich durch Tabaniden übertragenen nicht pathogenen Rindertrypanosomen, der wahrscheinlich durch Mücken übertragenen Vogeltrypanosomen und der vielleicht durch Glossinen übertragenen Krokodiltrypanosomen, ist bisher genaueres nicht bekannt geworden, so daß deren Einordnung in das System nicht möglich ist.<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> Nach meiner Ansicht ist es trotz der Angaben von KLEINE und TAUTE noch zweifelhaft, ob die Krokodiltrypanosomen durch Glossinen übertragen werden, da ja auf den Krokodilen auch Egel vorkommen (*Placobdella spec.*). Daß ja das wahrscheinlich durch Mücken übertragene *Tryp. gallinarum* in Glossinen eine Art abortiver Entwicklung durchmachen kann, ist durch DUKE und ROBERTSON festgestellt worden. Diese Tatsache ist bei der sehr leichten Kultivierbarkeit der Kaltblütler- und Vogeltrypanosomen nicht allzu verwunderlich. Über die Übertragung der Schlangentrypanosomen ist noch nichts bekannt geworden.

2d) An die in den Glossinen nur den Rüssel infizierenden Trypanosomen lassen sich als nächste Gruppe diejenigen anschließen, welche durch blutsaugende Dipteren wahrscheinlich rein mechanisch übertragen werden. Es sind dies die Erreger der Surra und des Mal de Caderas. [*Trypanosoma evansi* (*Tryp. soudanense*) und *Tryp. equinum*.]

3) Als dritte Hauptgruppe lassen sich an die rein mechanischen übertragenen Trypanosomen zwanglos die Trypanosomen anschließen, welche eines wirbellosen Überträgers nicht bedürfen. Hierher gehört nur *Trypanosoma equiperdum*, der Erreger der Beschälseuche der Pferde, dessen rein mechanische Übertragung durch *Stomoxys calcitrans* experimentell möglich ist (SCHUBERG und KUHN).

Auf eine Einordnung der Kalar-Azar-Parasiten in dieses System muß Verzicht geleistet werden, da über deren Übertragung zur Zeit noch nichts bekannt geworden ist. Die parasitisch im Milchsafte von Euphorbiaceen lebenden und durch Wanzen übertragenen trypanosomenähnlichen Flagellaten mögen hier nur kurz erwähnt werden.

### Schlußsätze.

1. Flöhe infizieren sich auf frischinfizierter Ratte leichter als auf Ratten mit chronischer Trypanosomeninfektion.

2. Der Hühnerfloh kann vom Rattenblute wochenlang leben. Als brauchbarer Überträger für das Rattentrypanosoma kommt er nicht in Betracht, da er während des Saugens meist keinen oder nur wenig Kot abgibt.

3. Die von PROWAZEK, BALDREY und RODENWALDT gesehenen „Entwicklungsformen“ des Rattentrypanosomas in der Rattenlaus lassen sich ohne Schwierigkeiten nachweisen, wenn man Läuse von Ratten untersucht, die in den ersten Wochen der Trypanosomeninfektion stehen.

4. Da bei den Rattenläusen nach Abnahme von den infizierten Ratten die Infektionsfähigkeit bald (nach GONDER erst nach 20 Tagen) erlischt, kann die Rattenlaus als echter Überträger des Rattentrypanosomas nicht bezeichnet werden, sofern man mit dem Begriffe des echten Überträgers das Vorkommen einer Entwicklung in ihm verbindet.

5. Die Rattenlaus scheidet mit ihrem Kote Trypanosomen aus.

6. In der Leibeshöhle infizierter Rattenläuse kommen Trypanosomen nur nach Verletzung des Darmkanales vor.

7. Eine dauernde Festheftung der Trypanosomen in der Rattenlaus, wie sie zur Erzeugung einer dauernden Infektion bei der Laus notwendig wäre, findet nicht statt.

8. In der Schaflausfliege, die wochenlang auf Ratten gefüttert werden kann, hält sich das Rattentrypanosoma bei  $+25^{\circ}\text{C}$  über zwei Tage am Leben, auch wenn die Schaflaus inzwischen Blut nicht infizierter Ratten aufgenommen hat. Späterhin lassen sich in den Schafläusen Trypanosomen nicht mehr nachweisen. Nach 24 Stunden treten in der Schaflaus Trypanosomen auf, die an die von KLEINE abgebildeten Übergangsformen zu den sog. männlichen Trypanosomen aus den Glossinen erinnern.

9. *Leptomonas ctenocephali* kommt auch bei den Larven des Hundeflohes vor.

10. An anderen parasitischen Protozoen beim Hundefloh wurden beobachtet:

*Malpighiella refringens* MINCHIN,  
*Nosema pulicis* NÖLLER:

bei den Hundeflohlarven die Gregarine *Actinocephalus parvus* WELLMER, die wahrscheinlich von Hühnerflohlarven herstammte.

11. An parasitischen Protozoen beim Hühnerfloh und beim Taubenfloh wurden beobachtet:

*Leptomonas spec.*,

die im Enddarme erwachsener Flöhe und der Larven sehr häufig vorkommt;

*Legerella parva* NÖLLER 1913

in den malpighischen Gefäßen erwachsener Flöhe;

*Actinocephalus parvus* WELLMER

im Darne aller untersuchten Larven.

Zum Schlusse danke ich Herrn Professor Dr. KITZ, dem Leiter des Pathologischen Institutes und der Seuchenversuchsstation der Münchener Tierärztlichen Hochschule für die freundliche Aufnahme und weitgehende Unterstützung im Pathologischen Institute, für das freundliche Interesse, das er meiner Arbeit entgegenbrachte und insbesondere für die Einführung in die Microphotographie. Herrn Assistenten HOBMAIER danke ich für die Herstellung des größten Teiles der beigegebenen Photographien und Microphotogramme und für die freundliche Hilfe bei vielen technischen Arbeiten. Allen den

Herren, die mir Sonderabdrücke von Arbeiten des betreffenden Gebietes zugesandt haben oder mit mir in Austausch getreten sind, sei auch hier gedankt. Der Vorteil einer umfangreichen Sammlung von Sonderabzügen kommt erst da recht zum Bewußtsein, wo die Bibliotheksverhältnisse zu wünschen übrig lassen.

### Literaturverzeichnis.

- ASHWORTH, J. H. and RETTIE, T. (1912): On a Gregarine-Steinina rotundata nov. sp. — present in the mid-gut of bird-fleas of the genus Ceratophyllus. Proc. of the Royal Soc. Ser. B. Bd. 86 S. 31, 38.
- BALDREY (1909): Versuche und Beobachtungen über die Entwicklung von Trypanosoma lewisi in der Rattenlaus. Arch. f. Protistenk. Bd. 15 S. 326.
- BALFOUR, A. (1905): A haemogregarine of Mammals. Journ. of Trop. Med. Bd. 8 S. 241—244.
- (1906): Herpetomonas Parasites in fleas. Journ. of Hyg. Bd. 6 S. 652—655.
- BASILE, C. (1911): Sulla Leishmaniosi e sul suo modo di trasmissione. Rendiconti della R. Accademia dei Lincei Bd. 20, 19. März, 18. Juni.
- BONNET-EYMARD, M. G. (1900): Sur l'évolution de l'Eimeria nova (Schneider). C. R. de la Soc. de Biol. Bd. 52.
- BOUET, G. et ROUBAUD, E. (1912): Expériences de transmission des trypanosomiasés par les stomoxes. Bull. Soc. Path. exot. Bd. 5 S. 544.
- BRUMPT, E. (1907): De l'hérédité des infections à Trypanosomes et à Trypanoplasmes chez les hôtes intermédiaires. C. R. de la Soc. de Biol. Bd. 63 S. 176—178.
- (1908): De l'origine des Hémoflagellés du sang des Vertébrés. Dasselbst Bd. 64 S. 1046.
- (1912): Le Trypanosoma cruzi évolue chez Conorhinus megistus, Cimex lectularius, Cimex boueti et Ornithodoros moubata. Cycle évolutif de ce parasite. Bull. de la Soc. de Pathol. Exot. Bd. 5 S. 360—364. 12. Juni 1912.
- (1912): Pénétration du Schizotrypanum cruzi à travers la muqueuse oculaire saine. Dasselbst Bd. 5 S. 724—725. 13. November 1912.
- (1913): Evolution de Trypanosoma lewisi, duttoni, nabiasi, blanchardi chez les puces et les punaises. Transmission par les déjections. Comparaison avec T. cruzi. Rôle régulateur des hôtes intermédiaires. Dasselbst Bd. 6 S. 167—177. 12. März 1913.
- BRUMPT, E. et GONZALEZ-LUGO (1913): Présentation d'une Reduvide du Vénézuëla, le Rhodnius prolixus, chez lequel évolue Trypanosoma cruzi. Dasselbst Bd. 6 S. 381—383.
- BRUMPT, E. et PIRAJA DA SILVA (1912): Existence du Schizotryp. cruzi CHAGAS 1909 à Bahia (Batta de Sao Joao). Dasselbst Bd. 5 S. 22—26. 10. Jan. 1912.
- CAUCHEMEZ, L. (1912): Recherches sur la transmission héréditaire de Crithidia melophagi FLU. C. R. de la Soc. de Biol. Bd. 72 S. 1062—1064.
- CHATTON, E. et DELANOE, P. (1912): Leptomonas Pattoni (Swingle) et Tryp. lewisi chez l'adulte et chez la larve de Ceratophyllus fasciatus. Dasselbst Bd. 73 S. 291—294.

- CHAGAS, C. (1909): Über eine neue Trypanosomiasis des Menschen. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz* Bd. 1.
- CUÉNOT, L. (1902): *Legerella testiculi* nov. sp., parasite du testicule de *Glomeris*. *Arch. de Zool. expér. et génér.* 3. Ser. Bd. 10 S. 49—53.
- DOPFLEIN, F. (1911): *Lehrbuch der Protozoenkunde*. 3. Aufl. Jena (G. Fischer).
- DUKE, H. L. (1912): Observations on fowls and ducks in Uganda with relation to *Tryp. gallinarum* and *Tryp. gambiense*. *Proc. Roy. Soc. Ser. B* Bd. 85 S. 378.
- (1914): Wild game as a trypanosome reservoir in the Uganda Protectorate. *Arch. f. Protistenk.* Bd. 32 S. 393—406.
- ECKARD, B. (1913): Übertragung des *Tryp. rhodesiense* durch *Glossina palpalis*. *Centralbl. f. Bakt. I. Abt. (Orig.)* Bd. 72 S. 73—76.
- EYSELL, A. (1913): Die Krankheitserreger und Krankheitsüberträger unter den Arthropoden. in: MENSE, C., *Handb. d. Tropenkrankh.* 2. Aufl. 1. Bd.
- FANTHAM, H. B. (1912): Some insect flagellates and the problem of the transmission of *Leishmania*. *Kongreßber. d. 18. Jahresversamml. d. Brit. Med. Assoc. zu Liverpool* 19.—26. Juli 1912. *The Brit. Med. Journ.* 2. Nov. 1912 S. 1196—1197.
- (1913): Note on the specific name of the *Herpetomonas* found in the dog-flea, *Ctenocephalus canis*. *Bull. Soc. de Pathol. Exot.* Bd. 6 S. 254.
- FRANÇA, C. (1914): La flagellose des Euphorbes. *Arch. f. Protistenk.* Bd. 34 S. 108.
- FRIEDRICHS, K. (1913): Die neuere, insbesondere die medizinische Literatur über Aphaniptera (bis April 1912). *Zeitschr. f. wiss. Ins. Biol.* Bd. 9 S. 272.
- GABBI, U. (1913): Über den Ursprung der Leishmaniosis interna (Kala-Azar) vom Hunde. *Zentralbl. f. Bakteriol. I. Abt. (Orig.)* Bd. 69 S. 504—516.
- GONDER, R. (1910): *Trypanosoma vespertilionis* (Battaglia). *Dasselbst* Bd. 53 S. 293—302.
- (1912): Untersuchungen über arzneifeste Mikroorganismen. I. *Trypanosoma lewisi*. *Dasselbst* Bd. 61 S. 102.
- HARMS, B. (1911): Zur Naturgeschichte der Flöhe. *Med. Klin. Jahrg.* 1911 Nr. 75.
- (1912): Untersuchungen über die Larve von *Ctenocephalus canis* CURTIS. *Arch. f. mikr. Anat.* Bd. 80 I. Abt. S. 167—216.
- HARTMANN, M. u. CHAGAS, C. (1910): Vorläufige Mitteilung über Untersuchungen an Schlangenhämogregarinen. *Arch. f. Protistenk.* Bd. 20.
- KLEINE, F. K. u. TAUTE, M. (1911): Ergänzungen zu unseren Trypanosomenstudien. *Arb. a. d. kais. Gesundheitsamt* Bd. 31 S. 321.
- KLEINE, F. K. u. ECKARD, B. (1913): Über die Bedeutung der Speicheldrüseninfektion bei der Schlafkrankheitsfliege. *Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh.* Bd. 74 S. 183—187.
- KOLLE u. WASSERMANN (1912—1913): *Handbuch der pathogenen Mikroorganismen*. Jena. 2. Aufl.
- LAFONT, A. (1911): Sur la transmission de *Leptomonas davidi* des Euphorbes par un hémiptère, *Nysius euphorbiae*. *C. R. de la Soc. de Biol.* Bd. 70 S. 58.59.
- LANDOIS, L. (1866): Anatomie des Hundeflohes (*Pulex canis* DUGÈS). *Nova acta Acad. Leop. Carol.* Bd. 33.
- LAVERAN, A. et FRANCHINI, G. (1913): *Trypanosoma talpae* chez *Palaeopsylla gracilis* (Tschb.). *C. R. de la Soc. de Biol.* Bd. 74 S. 1254.
- — (1913): Infections expérimentales de Mammifères par des flagellés du tube digestif de *Ctenocephalus canis*. *C. R. Acad. des Sci. Be.* 157. 1. Sept.: 3. Nov.

- LAVERAN, A. et FRANCHINI, G. (1914): Infection naturelle du rat et de la souris au moyen de puces de rat parasitées par *Herpetomonas Pattoni*. C. R. Acad. des Sci. Bd. 158 No. 7; 16. Febr. 1914; S. 450—453.
- LAVERAN, A. et MESNIL, F. (1912): Trypanosomes et Trypanosomiasés. 2. Aufl. Paris.
- LEESE, A. S. (1912): Biting flies and surra. Journ. of trop. veterinary Science Bd. 7 S. 19—32.
- LÉGER, L. (1911): *Caryospora simplex*, Coccidie monosporée et la classification des Coccidies. Arch. f. Protistenk. Bd. 22 S. 71—88.
- MACKINNON, D. L. (1909): Note on two new Flagellate Parasites in fleas *Herpetomonas ctenophthalmi* n. sp. and *Crithidia hystrihopsyllae* n. sp. Parasitology Bd. 2 S. 288—296.
- MANTEUFEL (1910): Studien über die Trypanosomiasis der Ratten mit Berücksichtigung der Übertragung unter den natürlichen Verhältnissen und der Immunität. Arb. a. d. kais. Gesundheitsamte Bd. 33 S. 46.
- MARZOCCHI (1911): Di un flagellato parassita del tubo del digerente del *Ctenocephalus canis* L. Pathologica 1911, Juni, S. 256—257.
- MESNIL, F. (1912): Modes de propagation des Trypanosomes. Les Tryp. chez l'hôte invertébré. Bull. de l'Inst. Pasteur Bd. 10 S. 1—32.
- (1913): Hémiptères des euphorbes parasitées de *Leptomonas davidi*. Bull. Soc. Pathol. exot. Bd. 6 S. 292.
- MINCHIN, E. A. (1910): On some parasites observed in the rat-flea (*Ceratophyllus fasciatus*). Festschr. z. 60. Geburtstage RICHARD HERTWIG's Bd. 1 S. 291.
- (1912): An Introduction to the Study of the Protozoa with special reference to the parasitic forms. London (E. Arnold).
- MINCHIN, E. A. and THOMSON (1910): The transmission of *Trypanosoma lewisi* by the rat-flea (*Ceratophyllus fasciatus*). (Preliminary communication.) Proc. of the Royal Soc. Ser. B. Bd. 82.
- — (1911): The transmission of *Trypanosoma lewisi* by the rat-flea (*Ceratophyllus fasciatus*). Brit. Med. Journ. 3. Juni 1911.
- — (1911): On the occurrence of an intracellular stage in the development of *Trypanosoma lewisi* in the rat-flea. (Preliminary note.) Dasselbst 19. Aug. 1911.
- MITZMAIN, M. B. (1912): Collected notes on the insect transmission of surra in carabaos. The Philippine Agricult. Review.
- NEIVA, A. (1913): Transmissão do Tryp. cruzi pelo *Rhipicephalus sanguineus* LAH. Brazil Medico. 8. Dez. 1913.
- NICOLL, W. and MINCHIN, E. A. (1911): On two species of Cysticeroids from the rat-flea (*Ceratophyllus fasciatus*). Proc. of the Zool. Soc. of London, März 1910.
- NÖLLER, W. (1912): Über Blutprotozoen einheimischer Nagetiere und ihre Übertragung. Vortrag vor der Berliner mikrobiologischen Gesellschaft am 13. Februar 1912. Sitz.-Ber. in der Berl. klin. Wochenschr. 1912 Nr. 11 S. 524, 11. März.
- (1912): Die Blutprotozoen des Hamsters (*Cricetus frumentarius* PALL.) und ihre Übertragung. Arch. f. Protistenk. Bd. 25 S. 377—385.
- (1912): Die Übertragungsweise der Rattentrypanosomen durch Flöhe. Arch. f. Protistenk. Bd. 25 S. 386—424, 17. Mai 1912.
- (1913): Die Blutprotozoen des Wasserfrosches und ihre Übertragung. I. Teil. Arch. f. Protistenk. Bd. 31 S. 169—240.

- NÖLLER, W. (1913): Die blutsaugenden Insekten als Krankheitsüberträger. Monatshefte f. prakt. Tierheilk. Bd. 25 S. 68—90.
- NUTTALL, G. H. F. (1908): The transmission of *Trypanosoma lewisi* by fleas and lice. Parasitology Bd. 1 S. 296.
- O'FARELL, W. R. (1913): Preliminary note on a new flagellate, *Crithidia hyalommae* n. sp., found in the tick *Hyalomma aegypticum* (Linnaeus 1748). Journ. of trop. med. and hygiene Bd. 16 S. 245/46.
- OTTEN, L. (1913): Beschouwingen omtrent verbreiding en besmettings-wijze van pest, in verband met waarneming en proefondervindelijk onderzoek op Java. Inaug.-Diss. Amsterdam, J. H. DE BUSSY. (Viel Literatur.)
- PATTON, W. S. (1908): *Herpetomonas* in *Ctenocephalus felis*. Annual Report upon the Work of the bact. settlem. of the King Institute. Madras.
- (1909): The life-cycle of a species of *Crithidia* parasitic in the Intestinal Tracts of *Tabanus hilarius* and *Tabanus* sp.? Arch. f. Protistenk. Bd. 15 S. 333—362.
- (1912): *Spirochaeta ctenocephali* in the Indian dog-flea *Ctenocephalus felis*. Annals of Trop. Med. and Parasit. Liverpool. Bd. 6 S. 357.
- (1912): The development of the parasite of Indian Kala-Azar. Scientific Memoirs by Officers of the Medical and Sanit. Departments of the Government of India. No. 53 S. 11.
- PATTON, W. S. and STRICKLAND, C. (1908): A critical review of the relation of blood-sucking invertebrates to the life-cycle of *Trypanosomes* of Vertebrates. Parasitology Bd. 1 S. 322.
- — (1909): A critical review of our present knowledge of haemoflagellates and allied forms. Dasselbst Bd. 2 S. 81.
- PORTER, A. (1911): The structure and life-history of *Crithidia pulicis* n. sp., parasitic in the alimentary tract of the human flea, *Pulex irritans*. Dasselbst Bd. 4 S. 327.
- PRICOLO, A. (1906): Le *Trypanosome* de la souris. Centralbl. f. Bakt. I. Abt. (Orig.) Bd. 42 S. 231.
- PROWAZEK, S. v. (1905): Studien über Säugetiertrypanosomen. Arb. a. d. kais. Gesundheitsamte Bd. 22 S. 351.
- (1911—1914): Handbuch der pathogenen Protozoen. Leipzig.
- RABINOWITSCH, L. u. KEMPNER, W. (1899): Beitrag zur Kenntnis der Blutparasiten, speziell der Rattentrypanomen. Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. 30 S. 251.
- REICHENOW, E. (1912): Die Hämogregarinen. In PROWAZEK's Handbuch der pathogenen Protozoen Bd. 2. Leipzig 1912.
- (1913): *Caryolysus lacertae*, ein wirtwechselndes Coccidium der Eidechse *Lacerta muralis* und der Milbe *Liponyssus saurarum*. Arb. a. d. kais. Gesundheitsamte Bd. 45 S. 317—363.
- ROBERTSON, M. (1909): Studies on Ceylon Haematozoa. I. Quart. Journ. of Micr. Sci. Bd. 53 S. 665.
- (1909): Further notes on a *Trypanosoma* found in *Pontobdella muricata*. Dasselbst Bd. 54 S. 119.
- (1911): Transmission of flagellates living in the blood of certain freshwater-fishes. Philosoph. transact. of the Royal Soc. of London Ser. B. Bd. 202 S. 29—50.

- ROBERTSON, M. (1912): Notes on the life-history of *Trypanosoma gambiense*. Proc. of the Roy. Soc. Ser. B Bd. 86 S. 66—71.
- (1912): Notes on the polymorphism of *Trypanosoma gambiense* in the blood and its relation to the exogenous cycle in *Glossina palpalis*. Dasselbst Bd. 85 S. 527—539.
- (1913): Notes on the life-history of *Trypanosoma gambiense*. Philos. transact. of the Royal Soc. of London Ser. B Bd. 203.
- RODENWALDT, E. (1909): *Trypanosoma lewisi* in *Haematopinus spinulosus*. Zentralbl. f. Bakt. I. Abt. (Orig.) Bd. 52 S. 30—42.
- ROSS, R. H. (1909): A Gregarine parasitic in the dog-flea. Ann. of trop. med. and parasit. Bd. 2 S. 359—363. Liverpool 1909.
- ROUBAUD, E. (1913): Evolution comparée des trypanosomes pathogènes chez les glossines. Bull. Soc. Pathol. exot. Bd. 6 S. 435.
- SANGIORGI, G. (1911): Sulla presenza di forme di *Leishmania infantum* nella pulce (*Pulex serraticeps*) dei cani randagi di Catania. Pathologica Bd. 3. 15. Januar 1911.
- (1911): Experimentelle Untersuchungen über die Übertragung der Protozoenblutparasiten durch *Cimex lectularius*. Centralbl. f. Bakt. I. Abt. (Orig.) Bd. 57 S. 81—84.
- SCHAUDINN, F. (1904): Generations- und Wirtswechsel bei *Trypanosoma* und *Spirochaeta*. Arb. a. d. kais. Gesundheitsamte Bd. 20.
- SHELLACK, C. (1913): Coccidien-Untersuchungen. II. Die Entwicklung von *Adelina dimidiata* A. SCHN., einem *Coccidium* aus *Scolopendra cingulata* LATR. Dasselbst Bd. 45 S. 269—316.
- SCHUBERG, A. u. KUHN, P. (1911/1912): Über die Übertragung von Krankheiten durch einheimische stechende Insekten. Dasselbst Bd. 31 (1911), Bd. 40 (1912).
- SCORDO (1913): Über die Frage der Übertragbarkeit des Kala-Azar durch einige blutsaugende Insekten. Zentralbl. f. Bakt. I. Abt. (Orig.) Bd. 70 S. 307—321.
- (1913): Über einige Infektionsversuche der *Anopheles* mit dem Milzsaft von Leishmaniakranken. Dasselbst Bd. 60 S. 36—41.
- SERGENT, EDM. et ÉT. (1907): Études sur les Hématozoaires des oiseaux. Ann. de l'Institut Pasteur Bd. 21 S. 270.
- (1912): Rôle des chiens et des chats dans la transmission de la Leishmaniose infantile. Bull. Soc. de Path. exot. Bd. 5.
- SERGENT, EDM. et ÉT., L'HÉRITIER et LEMAIRE, G. (1912): Transmission de *Leishmania* de chien à chien par piqûres de *Pulex serraticeps*. Dasselbst Bd. 5 S. 595.
- SIEDLECKI, M. (1899): Etude cytologique et cycle évolutif de *Adelea ovata* SCHN. Ann. de l'Inst. Pasteur.
- STRICKLAND, C. (1909): On the supposed development of *Trypanosoma lewisi* in lice and fleas. Parasitology Bd. 2 S. 81.
- (1911): The mechanism of transmission of *Trypanosoma lewisi* from rat to rat by the rat-flea. Brit. Med. Journ. 6. Mai 1911.
- (1912): *Agrippina bona* n. g., n. sp. Parasitology Bd. 5.
- STRICKLAND, C. and SWELLENGREBEL, N. H. (1910): Notes of *Trypanosoma lewisi* and its relation to certain arthropoda. Dasselbst Bd. 3 S. 436.



- SWELLENGREBEL, N. H. and STRICKLAND, C. (1910): The development of *Trypanosoma lewisi* outside the vertebrate host. Dasselbst Bd. 3 S. 360.
- SWINGLE, L. D. (1911): The transmission of *Trypanosoma lewisi* by rat-fleas (*Ceratophyllus* sp. and *Pulex* sp.), with short descriptions of three new herpetomonads. The Journ. of Infect. Diseases Bd. 8 S. 125.
- TIRABOSCHI (1904): Die Bedeutung der Ratten und Flöhe für die Verbreitung der Bubonenpest. Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. 48.
- TODD, J. L. (1909): A note on recent tryp. transmission experiments. The Journ. of Trop. med. and hyg. Bd. 12 No. 17.
- WELLMER (1911): Sporozoen ostpreußischer Arthropoden. Schriften der Physikal.-Ökonom. Ges. zu Königsberg, 52. Jahrg.
- WENYON, C. M. (1912): Some critical remarks on Capt. PATTON's report on Oriental Sore. The Journ. of the London School of Trop. Med. Bd. 1 S. 211—214.
- (1912): Experiments on the behaviour of *Leishmania* and allied flagellates in bugs and fleas, with some remarks on previous work. Dasselbst Bd. 2 S. 13—26.
- (1912): Observations on the natural flagellates of fleas, including a confirmation of NÖLLER's important results on the transmission of *Trypanosoma lewisi* by the dog-flea. Report of the Advisory Committee for the Tropical Diseases Research. Report of the Protozoologist to the London School of Tropical Medicine.
- (1913): Observations on *Herpetomonas muscae domesticae* and some allied flagellates. Arch. f. Protistenk. Bd. 31 S. 1—36.
- (1913): Experiments on the transmission of *Trypanosoma lewisi* by means of fleas. The Journ. of the London School. of Trop. Med. Bd. 2 S. 119—123.
- WOLFFHÜGEL, K. (1910): Die Flöhe (Siphonaptera) der Haustiere. Zeitschr. f. Infektionskrankheiten, parasitäre Krankheiten und Hygiene der Haustiere Bd. 8 S. 218—236 u. 354—382.

Außerdem enthalten viel Trypanosomenliteratur die Zeitschriften:

Bibliographia Zoologica.  
 Bulletin de l'Institut Pasteur.  
 Centralblatt f. Bakteriologie . . . 1. Abt. Ref.  
 Sleeping Sickness Bulletin (jetzt Tropical Diseases Bulletin).  
 Tropical Veterinary Bulletin.

### Tafelerklärung.

Die sechs Mikrophotogramme sind mit Zeiss Apochromat 2 mm und Projektionsokular 4 aufgenommen worden.

#### Tafel 22.

Fig. 1. Querschnitt durch den Dünndarm eines mit *Leptomonas spec.* infizierten Hühnerflohes. 500 $\times$ . Schnitt unmittelbar hinter der Einmündung der MALPIGH'schen Gefäße.

Fig. 2. Längsschnitt durch den Dünndarm eines mit *Leptomonas spec.* infizierten Hühnerflohes. 500 $\times$ .

#### Tafel 23.

Fig. 3. Sporen von *Nosema pulicis*. Ausstrich. HEIDENHAIN-Färbung. 450 $\times$

Fig. 4. *Nosema pulicis* in den Epithelzellen des Hundeflohmagens. Schnitt.

Fig. 5. Trypanosomenrasen im Dünndarm eines Hundeflohes (sechs Tage nach dem infizierenden Saugakte auf einer *Lewis*-Ratte. Versuchsfloh 8 (1914)). 500 $\times$ . Schnitt kurz hinter der Einmündung der MALPIGH'schen Gefäße. Eisen-hämatoxylin nach ROSENBUSCH.

Fig. 6. Trypanosomenpolster im Dünndarme desselben Hundeflohes. 400 $\times$ . Schnitt an der Einmündung des Dünndarmes in das Rektum. Hämatoxylin nach DELAFIELD.

Nachdruck verboten.  
Übersetzungsrecht vorbehalten.

## Kleinere Mitteilung.

---

### Bemerkungen über *Amoeba lacertae* HARTMANN, eine Antwort an CLIFFORD DOBELL.

Von  
**Max Hartmann.**

(Hierzu 6 Textfiguren.)

---

In einer in Bd. 34 Heft 2 dieses Archivs erschienenen Arbeit „Cytological studies on three species of Amoeba — *A. lacertae* HARTMANN, *A. glebae* n. sp., *A. fluvialis* n. sp.“ beschreibt DOBELL die Kernteilung einer Amöbe aus dem Eidechsendarm, die er für identisch mit *Amoeba lacertae* HARTMANN hält. Seine Darstellung weicht beträchtlich von der von NÄGLER (1909) gegebenen ab, da seine Amöbe weder Äquatorialplatte noch Centriole aufweise. Obwohl DOBELL selbst anfangs der Meinung war, eine andere Amöbe vor sich zu haben, kam er schließlich doch zur Überzeugung, daß beide Formen identisch seien, und er erklärt die Verschiedenheit der Befunde einfach damit, daß die NÄGLER'sche Darstellung nicht richtig sei, indem die betreffenden Stadien teils unkorrekt gezeichnet seien, teils sich auf abnorme Individuen bezögen.

Ich hatte seinerzeit die Teilungsstadien in der unter meiner Leitung angefertigten Arbeit von NÄGLER fast alle selbst gesehen, ja einige Stadien schon vorher selbst publiziert (HARTMANN u. v. PROWAZEK 1907), und mich dabei von dem Vorhandensein von Centren und Äquatorialplatten überzeugt.<sup>1)</sup> Da aber NÄGLER's Angaben gerade über die *A. lacertae* recht

---

<sup>1)</sup> Die Verschiedenheit der gleichen Abbildungen von NÄGLER (1909) und mir (HARTMANN u. v. PROWAZEK 1907), auf die DOBELL so nachdrücklich hinweist, be-

kurz und nicht sehr genau sind, auch seine Abbildungen nicht durchaus befriedigend, so habe ich selbst diese Form zum Teil an alten Präparaten NÄGLER's, zum Teil an neuen, von frischer Kultur gewonnenen nochmal untersucht und kann auch jetzt gegenüber den Behauptungen DOBELL's mit allem Nachdruck hervorheben, daß die NÄGLER'schen Angaben in den genannten Hauptpunkten (Centren und Äquatorialplatten) vollkommen zu Recht bestehen.

Die Aufklärung der Verschiedenartigkeit der Angaben DOBELL's und NÄGLER's liegt darin, daß es sich um verschiedene Formen handelt, wie ich im folgenden kurz ausführen möchte.

DOBELL hat sein Amöbenmaterial direkt aus dem Darm von *Lacerta muralis* gewonnen. Die von NÄGLER beschriebene Amöbe habe ich aus dem Darminhalt von Eidechsen gezüchtet und geglaubt, die auch von mir selbst gelegentlich direkt im Darm beobachtete Form nun in Kultur vor mir zu haben.

NÄGLER's Angaben und Abbildungen beziehen sich nur auf die gezüchtete Amöbe. Diese unterscheidet sich jedoch von der jetzt von DOBELL genau untersuchten im Darm lebenden Amöbe vor allem dadurch, daß bei ersterer bei der Kernteilung deutliche Äquatorial- und Tochterplatten auftreten. Nach DOBELL soll die gezüchtete Form einfach abnorm sein. Daß die Kernteilung mit Äquatorial- und Tochterplatten abnorm sei, ist ausgeschlossen, da sie außerordentlich gesetzmäßig und stets in Dutzenden von Kulturen in gleicher Weise verläuft. Die zweite Alternative DOBELL's, daß die Zeichnungen NÄGLER's in bezug auf das Vorhandensein von Äquatorialplatten unkorrekt seien, trifft ebenfalls nicht zu. Ich gebe hier möglichst genaue Bilder von Äquatorial- und Tochterplattenstadien nach einem alten Präparat von NÄGLER (Fig. 1 u. 2) sowie nach neuen Safranin-Lichtgrünfärbungen (Fig. 5—7). In diesen Präparaten finden sich die gleichen Stadien häufiger; es kann sich mithin nicht um ein zufälliges abnormes Bild handeln. Die hier gegebenen Abbildungen 1 u. 2 (sowie 5—7) stimmen in den wichtigen Verhältnissen mit den etwas größeren Fig. 47, 49 u. 50 von NÄGLER überein, die, wie DOBELL bemerkt, seiner Fig. 11 resp. 14 entsprechen. Die Teilungsstadien befinden sich in der Tat ungefähr auf der gleichen Stufe, aber bei DOBELL's Amöbe weisen die Kernspindeln Körnerreihen auf und es ist keine Spur von Äquatorial- und Tochterplatten zu beobachten, wie auch ich mich an einem mir von Herrn Kollegen DOBELL freundlichst übersandten Präparat überzeugen konnte. Dagegen sind bei unserer Amöbe ziemlich scharf abgesetzte Polkappen, eine ganz achromatische Spindel ohne Körner und deutliche Äquatorial- und Tochterplatten vorhanden. Letztere sind zudem bei einer ganzen Reihe von Amöben aus der *Limax*-Gruppe von den verschiedensten

rnhen, wie ein direkter Vergleich erkennen läßt, in erster Linie auf verschiedener Technik der Zeichnung, während sie in allen wichtigen Punkten (Äquatorialplatte, Centren), auf deren Illustrierung es ankam, übereinstimmen. Die Figuren in unserer Abhandlung von 1907 sind Kopien nach den Bleistiftoriginalzeichnungen von NÄGLER. Die Abbildungen in der Arbeit von NÄGLER hat dieser selbst nach seinen Originalen in Tusche ausgeführt, resp. die Originale übertuscht, was, da er ein ungeübter Zeichner war (es handelte sich um seine Erstlingsarbeit), meist sehr ungewandt ausgefallen ist. Besonders das Plasma ist, was übrigens im Text selbst hervorgehoben wurde, schematisch ausgeführt.

Forschern übereinstimmend beschrieben worden (CHATTON, WASIELEWSKI u. HIRSCHFELD, WITHMORE, ALEXEIEFF u. a.).

Auch die späteren Stadien weichen bei beiden Amöben voneinander ab. Bei DOBELL's Amöbe ziehen sich die Kernspindeln ganz weit auseinander, bei *A. lacertae* kommt die Kernteilung nach dem Tochterplattenstadium rasch zu Ende, wie NÄGLER richtig angab und wie die hier



Fig. 1.

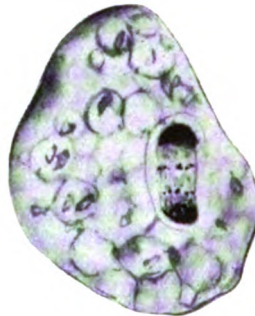


Fig. 2.

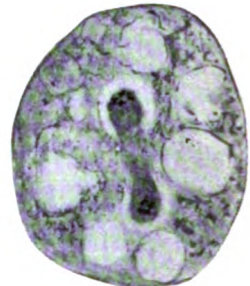


Fig. 3.

Textfig. 1—3. *Amoeba lacertae* HARTMANN. Kernteilungsstadien.

Fig. 1 u. 2 nach einem alten Präparat von Herrn Dr. NÄGLER, Eisenhämatoxylin stark gefärbt. Fig. 3 nach einem alten Präparat von mir, Eisenhämatoxylin stärker differenziert. Gezeichnet mit ABBE'schem Zeichenapparat bei Obj. 2 mm, Comp. Oc. 18. Vergr. ca. 2500.

wiedergegebene Fig. 4 mit Sicherheit beweist. NÄGLER's Fig. 51, und darin stimme ich DOBELL zu, stellt allerdings wahrscheinlich zwei nach vollendeter Kernteilung außergewöhnlich nahe aufeinander gerückte Kerne dar und kann daher nicht als Beweis für den schnellen Ablauf der letzten

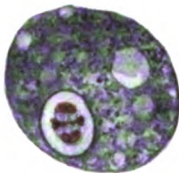


Fig. 4.

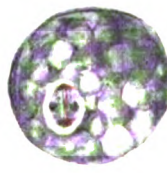


Fig. 5.

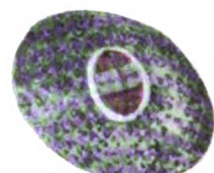


Fig. 6.

Textfig. 4—6. *Amoeba lacertae* HARTMANN. Kernteilungsstadien nach einem neuen mit Safranin-Lichtgrün gefärbten Präparat. In Fig. 5 u. 6 deutliche Centrodesmen. Gezeichnet mit ABBE'schem Zeichenapparat bei Obj. 2 mm, Comp. Oc. 12. Vergr. ca. 1900.

Kernteilungsstadien herangezogen werden. Seine Fig. 48 hat auch NÄGLER nicht als Spätstadium der Kernteilung angesprochen, sie steht nur zufällig auf der Tafel an dieser Stelle.

Die Meta- und Telophasen der Kernteilung von *A. lacertae* sind also nicht als Abnormitäten zu betrachten, auch nicht als durch unkorrekte

Zeichnung vorgetäuschte Bilder, sondern sie weichen in der Tat erheblich von denen der DOBELL'schen ab. Wir kommen daher zu dem Schluß, daß die DOBELL'sche Amöbe trotz ihrer Ähnlichkeit speziell bezüglich der Prophasen der Kernteilung eine andere Art ist, obwohl auch unsere insofern aus dem Eidechsendarm stammt, als sie aus dessen Inhalt gezüchtet ist. Daß man aus dem Darm von Tieren verschiedene Amöbenarten kultivieren kann, die als vegetative Amöben gar nicht im Darm leben, sondern ihn nur als Cyste mit der Nahrung passieren, ist eine neuerdings vielfach bestätigte Tatsache (NÄGLER, WITHMORE, WALKER u. a.). Ebenso liegen die Verhältnisse offenbar auch hier, und unsere frühere Ansicht ist nach der DOBELL'schen Arbeit nicht richtig. So ist auch die *A. diploidea* mehrfach aus dem Eidechsendarm gezüchtet und neuerdings haben wir wieder zwei *Limax*-artige Amöben daraus kultiviert, wovon die eine *A. lacertae* ist, während die andere einen neuen, vollkommen abweichenden Kernteilungsvorgang aufweist. Die von DOBELL genauer studierte Eidechsenamöbe ist somit nicht *A. lacertae* und sie muß daher einen neuen Namen erhalten. Ich schlage hiermit den Namen *Amoeba (Valkampfia) dobelli* vor.

Bei den bisherigen Ausführungen habe ich mit Absicht die Centrenfrage nicht berührt, sie spielt ja auch für die Entscheidung der Identität der beiden in Frage kommenden Amöben insofern keine Rolle, als DOBELL hier die Richtigkeit der Beobachtungen an den gefärbten Präparaten wenigstens teilweise anerkennt und sie nur anders deutet, nämlich als zufällig bei der Differenzierung der Eisenhämatoxylinpräparate gefärbt stehengebliebene Körner und Fäden. Es ist nun durchaus nicht meine Absicht, hier die Centrenfrage eingehend zu diskutieren, da ich in nächster Zeit anschließend an eine größere Amöbenarbeit, in der ich auch die *A. lacertae* nochmals genau behandeln werde, sie doch eingehender erörtern werde. Bei dieser Gelegenheit werde ich mich auch mit ihren vielfachen Gegnern und Kritikern auseinandersetzen. Hier nur einige ganz kurze Bemerkungen.

Ich gebe vollkommen zu, daß man an den Nachweis von Centren einen schärferen Maßstab anlegen muß, als ich dies früher getan habe. Eisenhämatoxylinpräparate können nur dann mit Sicherheit das Vorhandensein von Centren dartun, wenn die Kernspindel außer der Äquatorialplatte kein körniges, sich schwarzfärbendes Material enthält. Das ist aber sowohl, wenn auch in geringerem Grade, bei *A. lacertae*, in sehr hohem Maße bei der Amöbe DOBELL's der Fall. Bei derartigen Präparaten kann das Vorhandensein von Centren nicht mit Sicherheit bewiesen, ebensowenig aber auch in Abrede gestellt werden. Dagegen hat schon NÄGLER bei *A. lacertae* einen sicheren Beweis für Centren mit Centrodesmosen gegeben durch das in Fig. 10 abgebildete Kernteilungsstadium nach dem Leben. Gerade dieses Bild gibt allerdings DOBELL die Veranlassung zu den schärfsten Angriffen. Wenn DOBELL meint, daß die Centrodesmose wegen der gleichen Lichtbrechung nicht unterschieden werden könne, so stehen dieser nicht genügend fundierten Behauptung unsere positiven Beobachtungen als strenger Gegensatz gegenüber. Bei Entamöben (*Entamoeba histolytica*, *muris* u. a.) sind die Centrodesmosen gerade wegen ihrer abweichenden Lichtbrechung im Leben besser nach-

zuweisen als im gefärbten Präparat, weil hier die Spindelfasern mit chromatischen Körnern besetzt sind. Auch konnte die Kernteilung im Leben von Anfang an verfolgt werden; auch Herr Prof. METCALF hat sich bei *E. histolytica* (*tetragena*) während seines Aufenthaltes an unserem Institut davon überzeugt.

Zudem sind wir jetzt in der Lage, Centriolen und Centrodemosomen mit Safranin-Lichtgrünfärbung auch färberisch einwandfrei darstellen zu können. Bei dieser Methode erscheinen nämlich Centren und Centrodemosomen leuchtend rot, die Spindel und Äquatorialplatte dagegen grün (Fig. 5 u. 6). Der beliebte Einwand des Kunstproduktes ist hier wohl ausgeschlossen. Vielleicht kann diese Methode auch bei der DOBELL'schen Amöbe ganz andere Aufschlüsse geben über Dinge, die DOBELL jetzt noch auf Grund der gerade für sein Objekt in dieser Hinsicht unzureichenden HEIDENHAIN-Färbung und auf Grund negativer Beobachtungen hin in Abrede stellt.

### Alteration of Name.

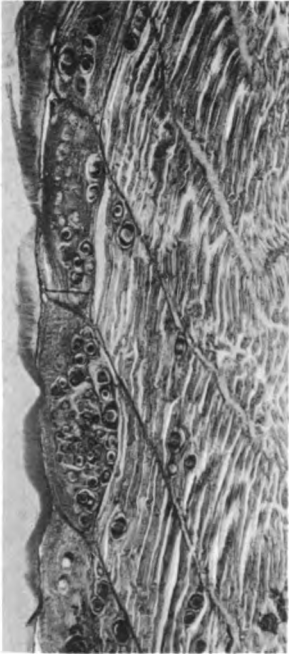
In an article entitled „Observations on Amoebae from the Intestine of the Crane-fly larva, *Tipula* sp.“ (Arch. f. Protistenk. Bd. 32 1914 p. 267) I named an entamoeba *Löschia hartmanni* n. sp. It has since been pointed out to me that this name is preoccupied by *Entamoeba hartmanni* PROWAZEK (1912), which has lately been placed in the genus *Löschia* by CASTELLANI and CHALMERS in their Manual of Tropical Medicine, second edition, p. 276. Consequently, I beg to alter the name of the entamoeba of *Tipula* to *Löschia minchini* n. sp.

May 1914.

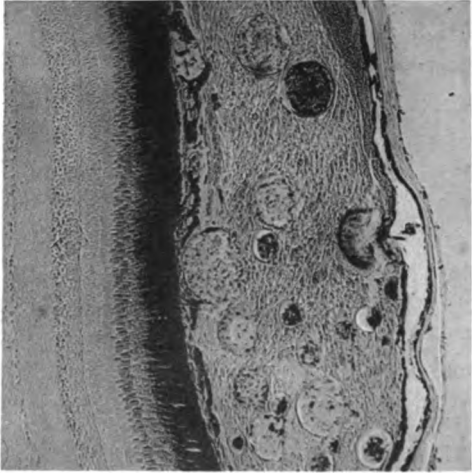
DORIS L. MACKINNON, D. Dc.  
University College, Dundee, Scotland.



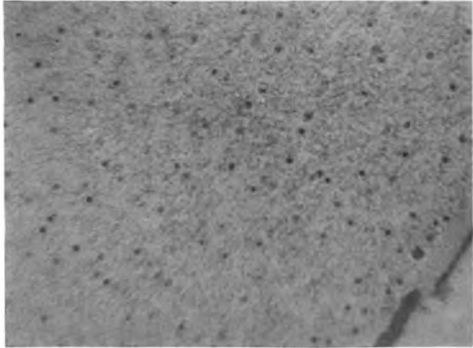




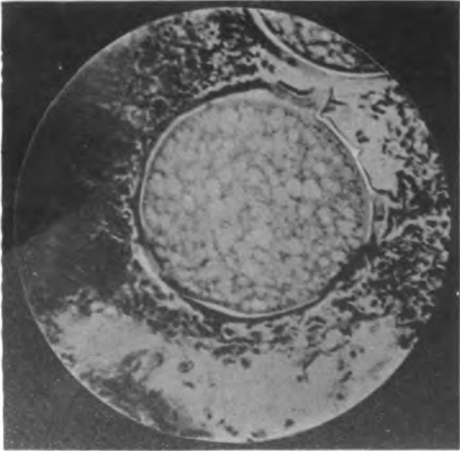
1



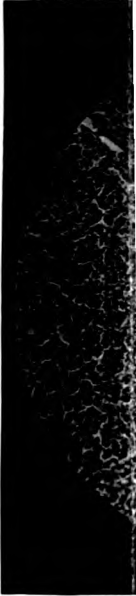
2

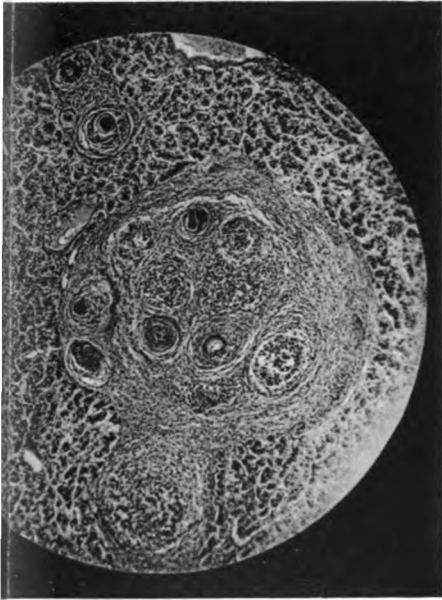


4



3





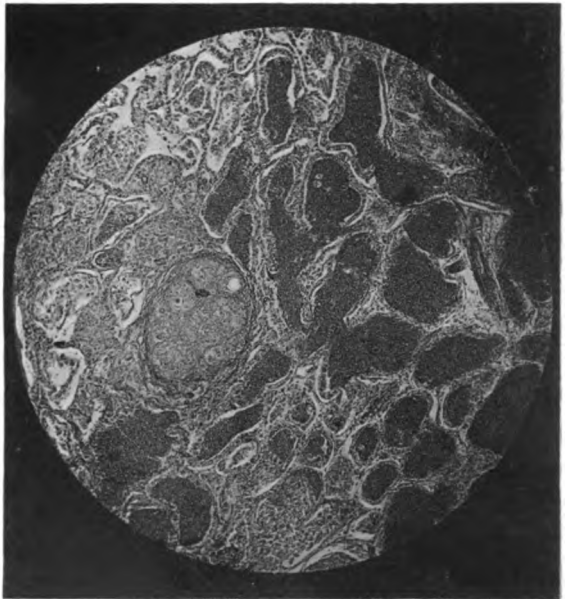
5



6



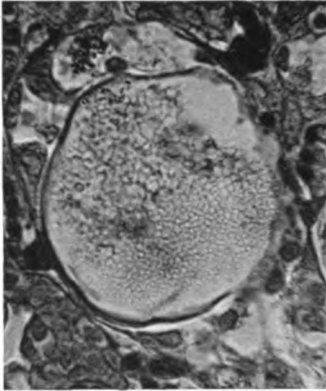
7



8



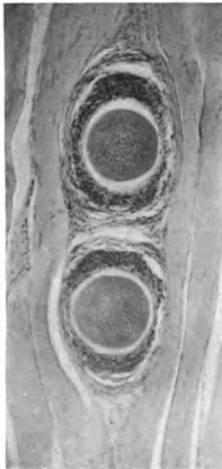




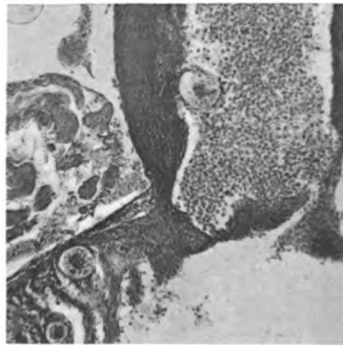
9



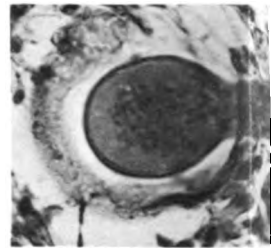
11



10



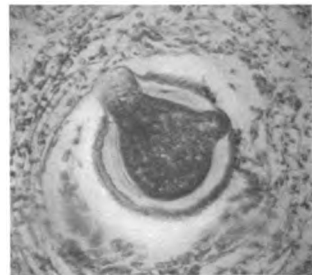
13



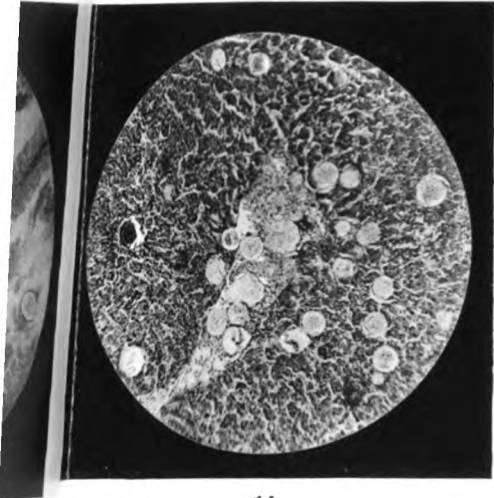
17



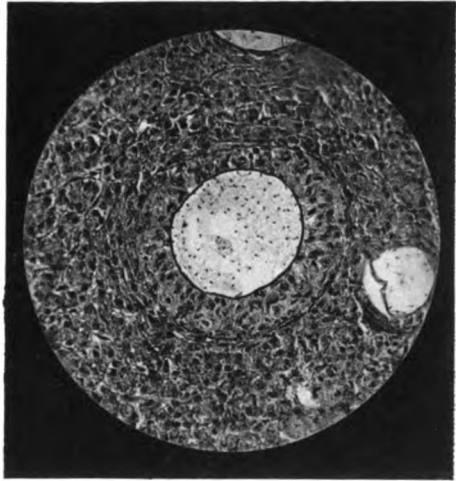
12



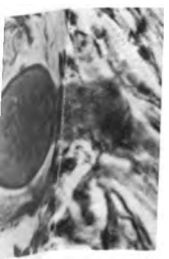
16



14



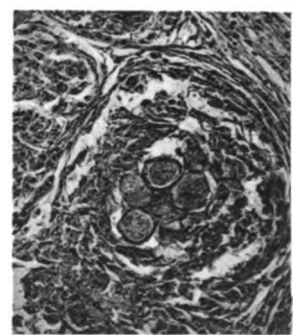
15



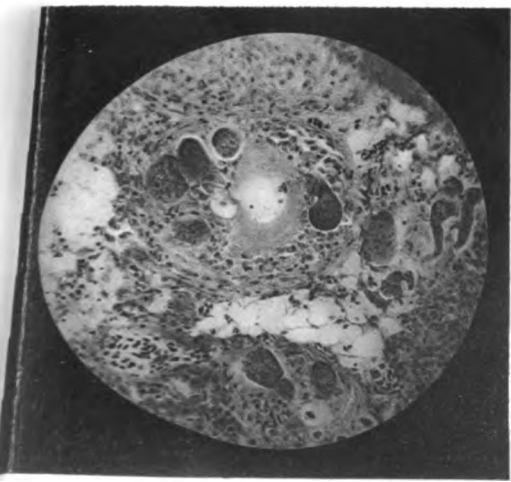
16



19



21



20

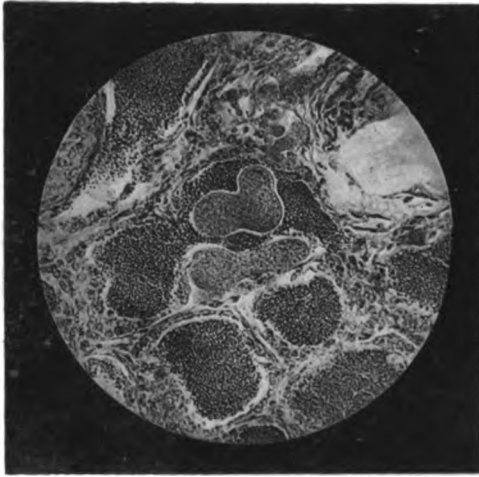


18

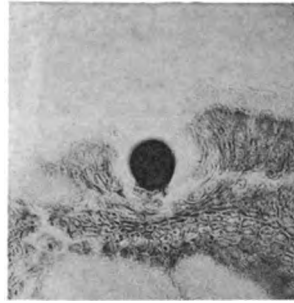








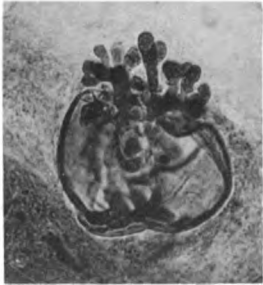
22



27



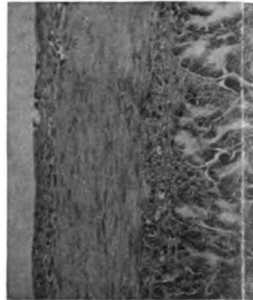
29



23



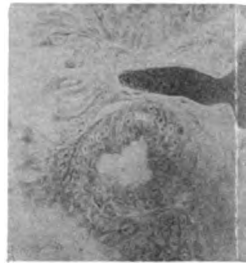
24



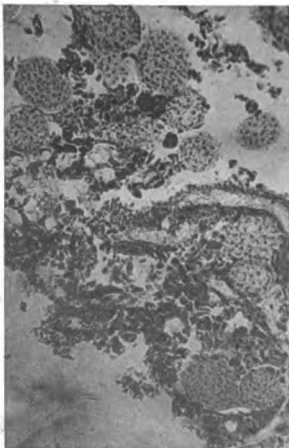
30



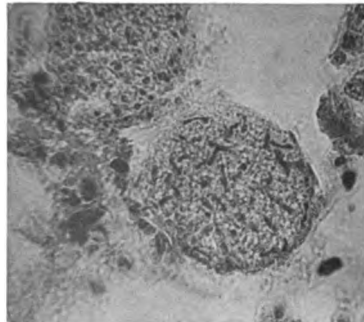
28



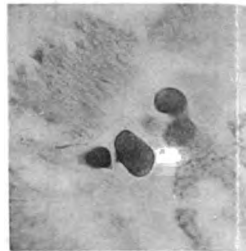
31



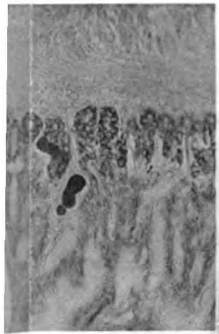
25



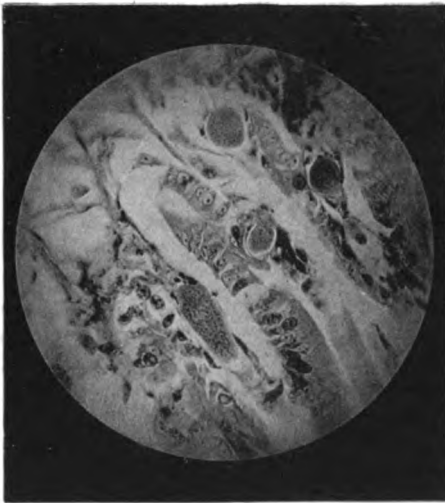
26



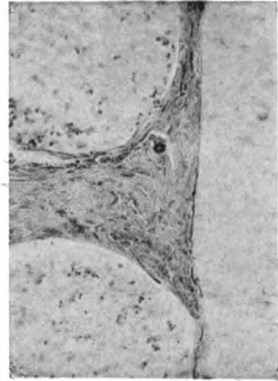
32



29



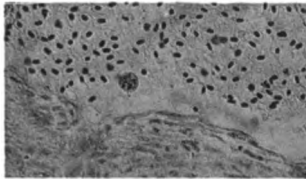
33



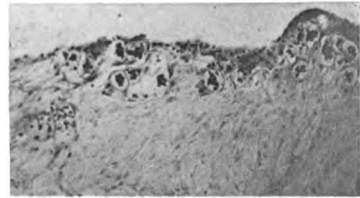
38



30



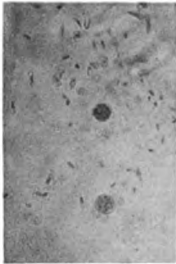
34



39



31



35

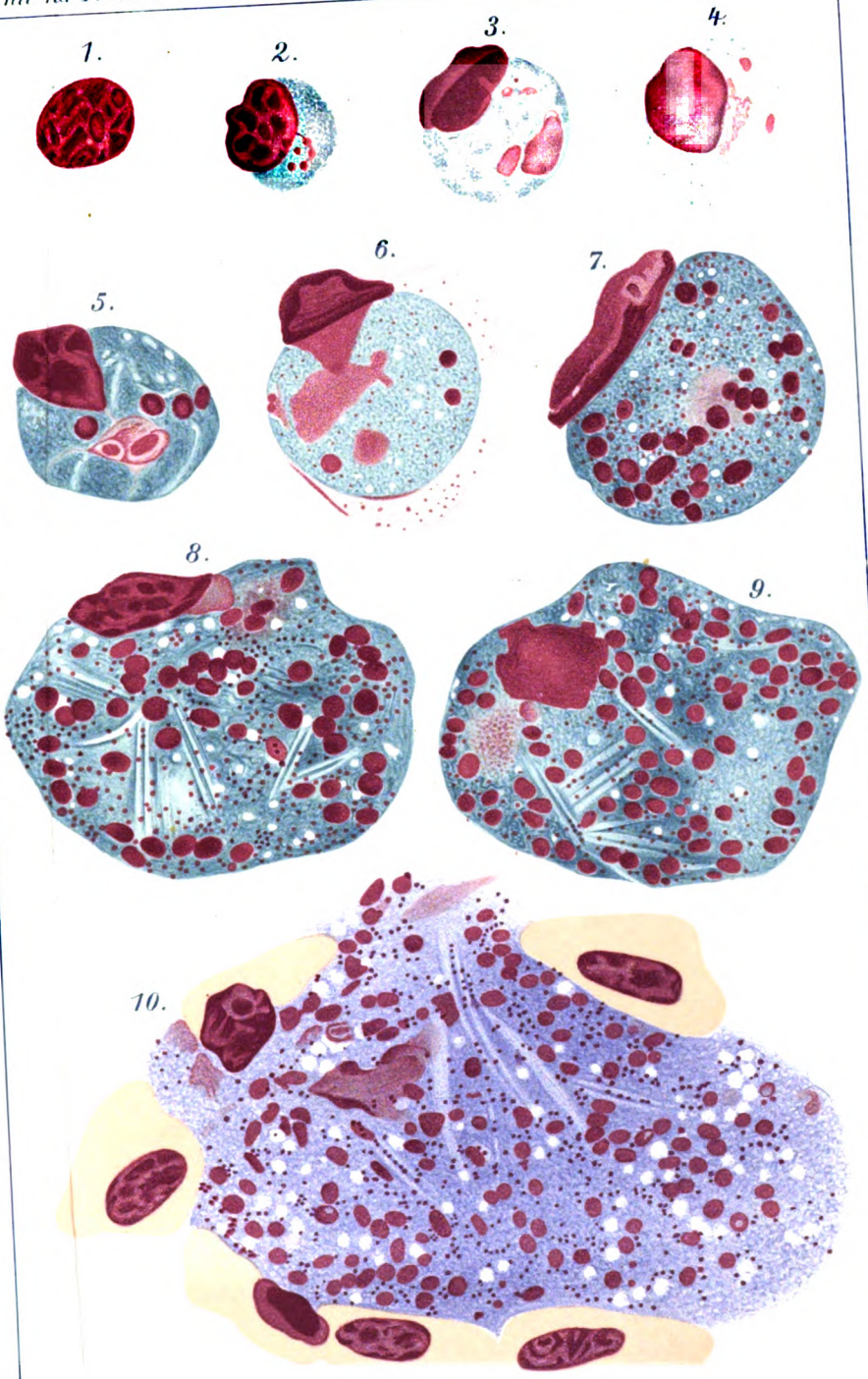


37



36





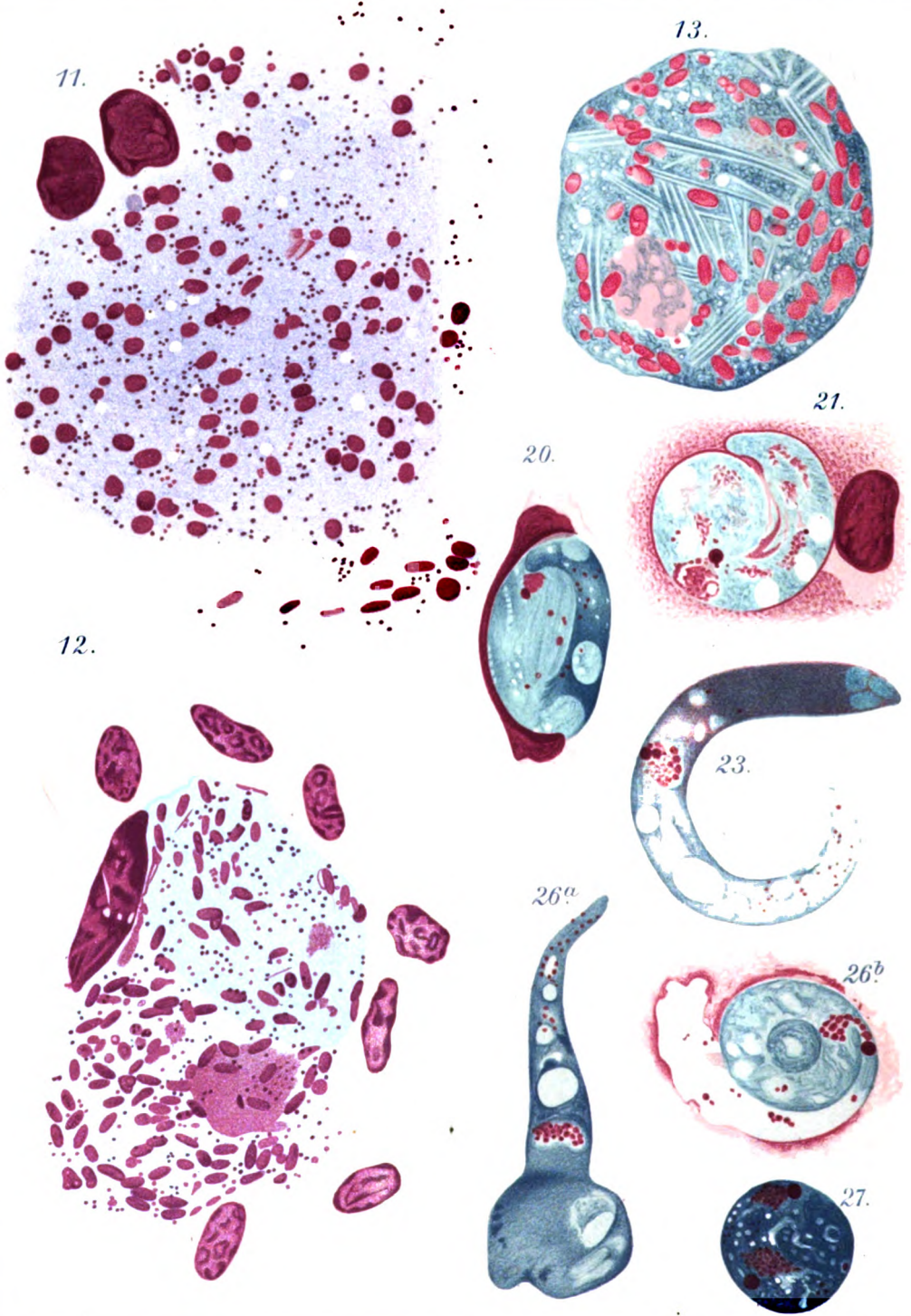
H. S. Kera pinc.  
Moldovan.

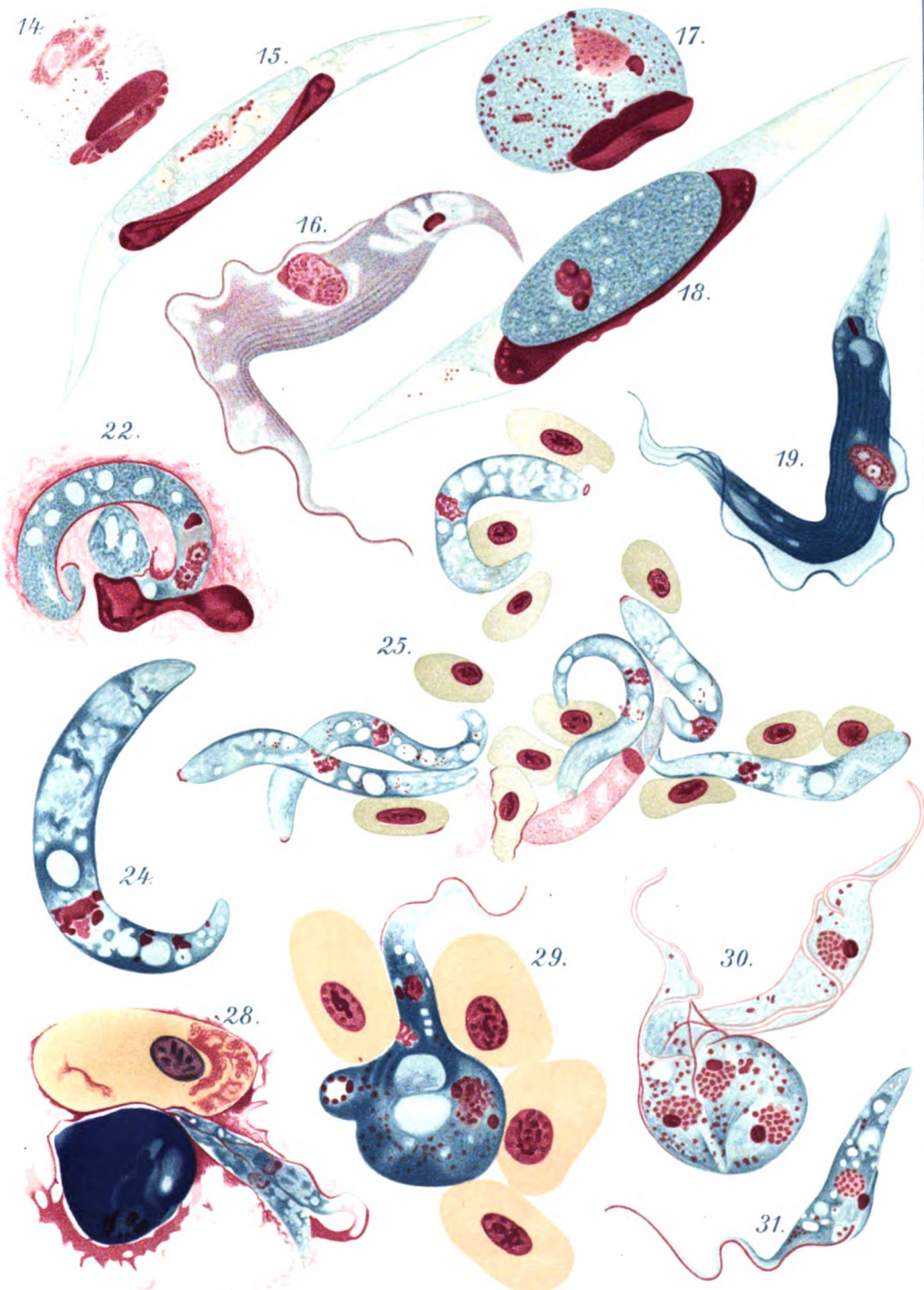
Verlag von Gustav Fischer in Jena

Dr. Anton E. A. F. P. J. S. P. J.





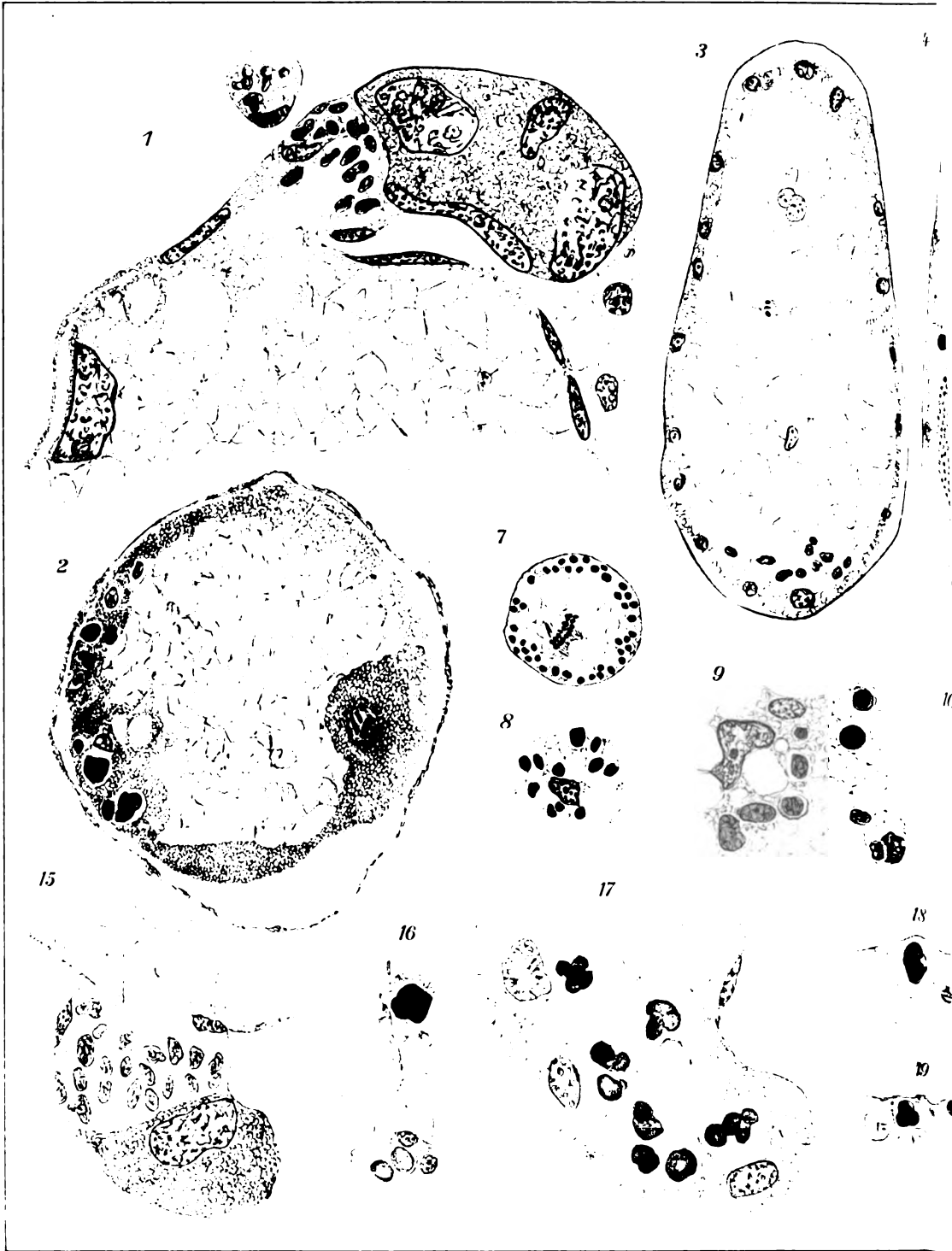


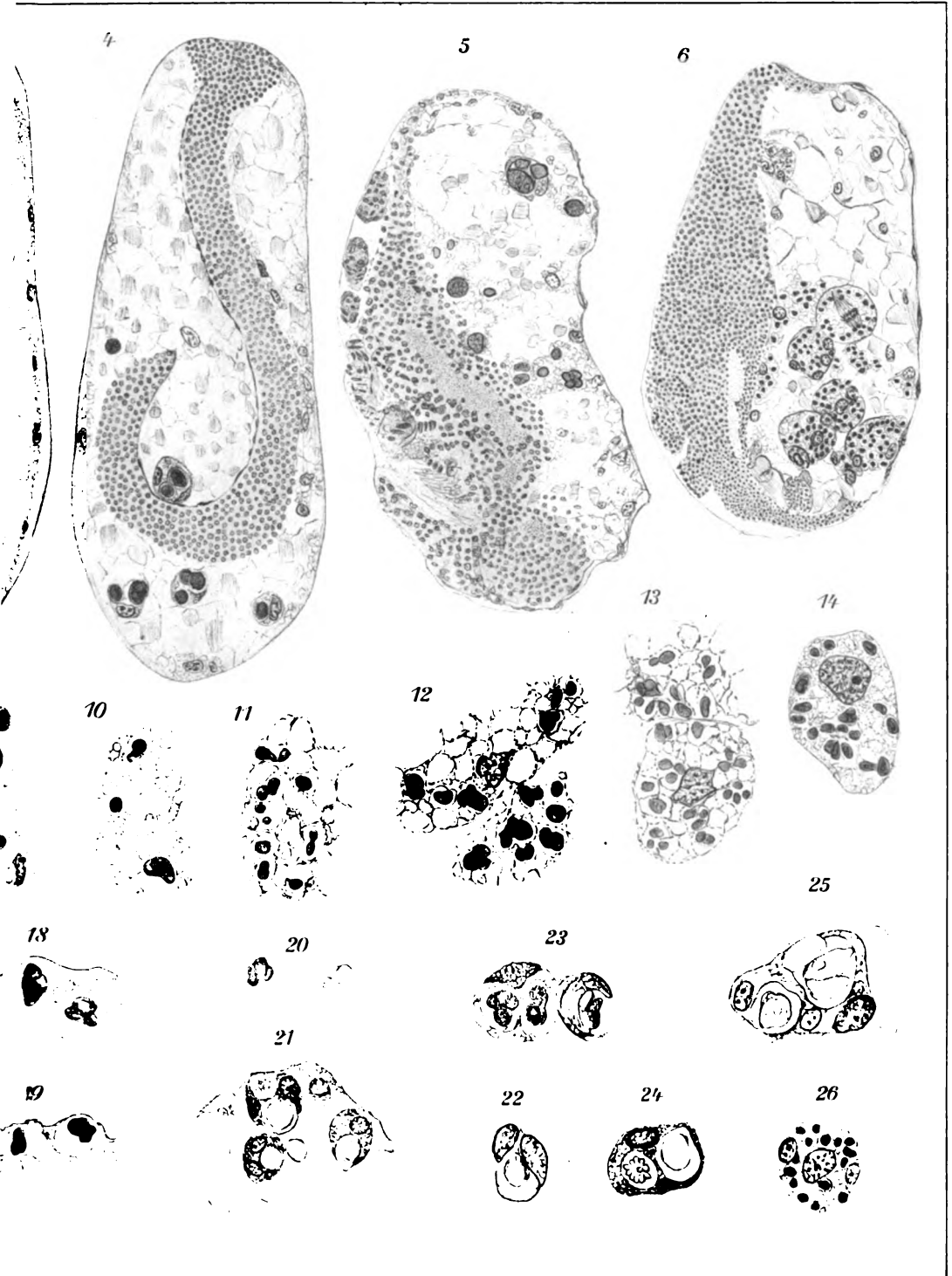


















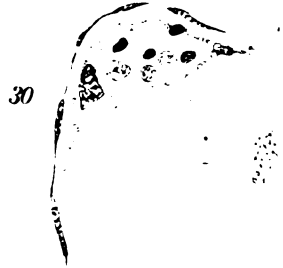
27



28



29



30



34



35



39

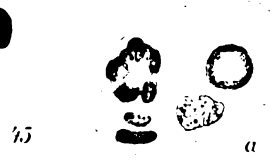


40



41

44



45



38



42



a

b



47







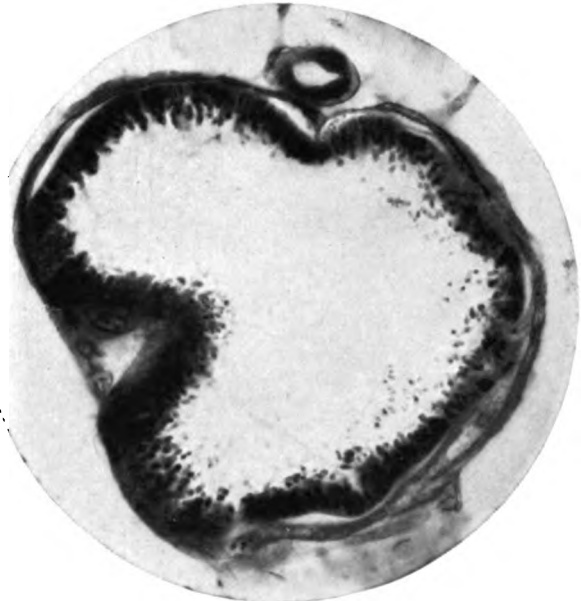


Fig. 1.

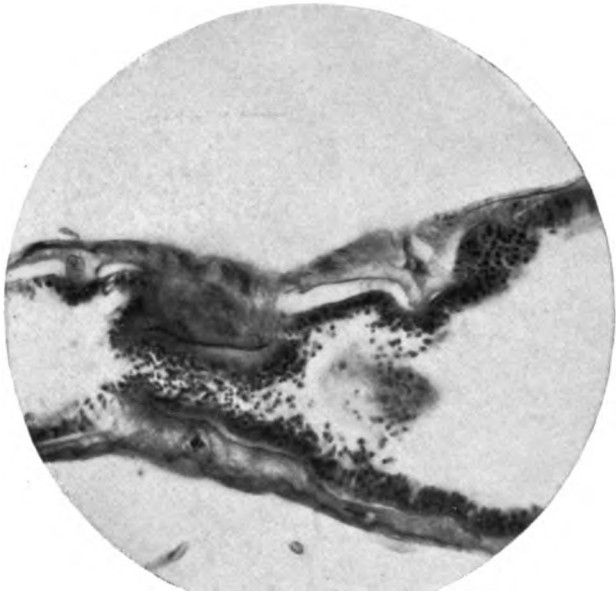


Fig. 2.

M. Hobmaier und W. Nöller phot.



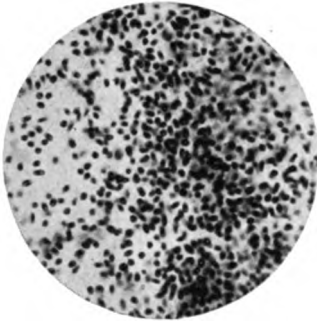


Fig. 3.

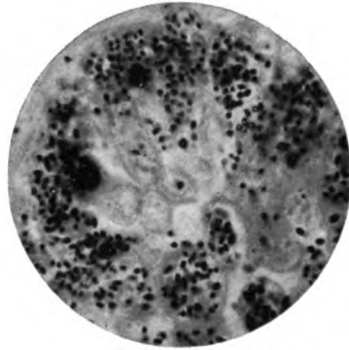


Fig. 4.

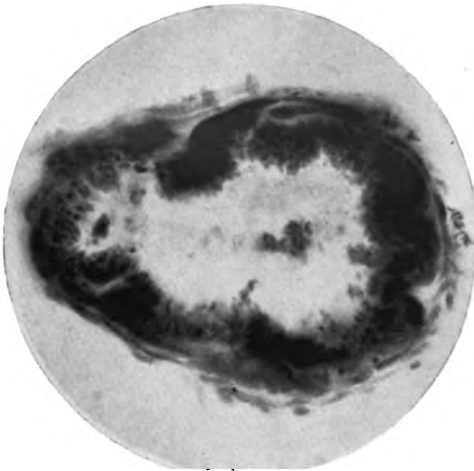


Fig. 5.

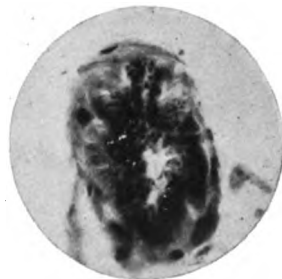


Fig. 6.

M. Hobmaier und W. Nöller phot.

1881









Princeton University Library



32101 074861657

