

## I.

# Methoden zur Erforschung des Lebens der Protisten

von

August Pütter in Göttingen.

(Mit 48 Figuren.)

Die Verwendung der Protisten als Objekte der physiologischen Forschung verdanken wir in erster Linie Verworn (1889), der in seinen psycho-physiologischen Protistenstudien den ersten systematischen Versuch machte, diese niedersten Lebensformen für die Entwicklung allgemein physiologischer Anschauungen nutzbar zu machen.

Die prinzipielle Berechtigung derartige Objekte zur Lösung allgemeiner Fragen heranzuziehen, dürfte heute kaum mehr in Abrede gestellt werden.

In den Protisten haben wir einzelne frei lebende Zellen vor uns, die das Studium der Lebensprozesse direkt gestatten, während in den Vielzelligen durch die Vereinigung der Zellen zu Geweben eine Mannigfaltigkeit höherer Ordnung geschaffen wird.

Es wäre durchaus unberechtigt zu behaupten, daß der Lebensprozeß bei den Protisten einfacher abliefe, als in den Zellen irgend eines hoch differenzierten Gewebsorganismus, im Gegenteil muß man vom Standpunkte der allgemeinen Physiologie gerade betonen, daß uns das Studium der Protisten deshalb interessiert, weil sie, ebenso wie jede andere Form der lebendigen Substanz, alle allgemeinen Lebenserscheinungen zeigen. Ihr hoher Wert, bei der Bearbeitung allgemein physiologischer Fragen liegt vielmehr darin, daß uns hier die einzelne Zelle eine Fülle von Symptomen der Lebensvorgänge zeigt, die ohne weiteres dem Studium zugänglich sind. In erster Linie die Bewegungserscheinungen der Protisten sind so außerordentlich feine Indikatoren für die physiologischen Prozesse in der Zelle, wie sie bei Vielzelligen kaum durch Anwendung komplizierter Methoden an Zellkomplexen gewonnen werden können.

Die Feinheit und Zahl der Indikatoren aber, die uns ein lebendiges System zur Charakterisierung seines Zustandes bietet, ist ausschlaggebend dafür, ob das Objekt für unsere Forschungen brauchbar oder unbrauchbar ist.

In bezug auf die physikalischen Symptome der Lebensvorgänge dürften wohl kaum Objekte zu finden sein, die günstiger wären, als gerade die Protisten, weshalb ihr Studium auch gerade für die allgemeine Reizphysiologie von besonderer Bedeutung gewesen ist.

Der chemischen Untersuchung stellt sich oft der Materialmangel störend entgegen, so daß hier noch große Lücken auszufüllen sind.

Endlich gestaltet sich das Studium der allgemeinen Lebensbedingungen bei den Protisten meist wesentlich einfacher, als bei höheren Formen.

## I. Die Objekte.

Einer scharfen Abgrenzung des Stammes der Protisten stehen erhebliche Schwierigkeiten entgegen. Das Hauptcharakteristikum, die Einzelligkeit, läßt besonders bei der Abgrenzung der Protophyten gegen die höheren Algen im Stich und wir können hier die Grenze willkürlich an verschiedenen Stellen ziehen.

Für die physiologische Verwertung der Protisten, als Objekten der Zellularphysiologie ist der Umstand maßgebend, daß auch in jenen Fällen, wo Verbände mehrerer Zellen: Zellfäden, Zellplatten, auftreten, doch keine Differentiierung der einzelnen Elementarorganismen eintritt. Die Zellen solcher Zellverbände leisten anscheinend nichts erhebliches für den ganzen Verband, das Zusammenleben ist ein mehr zufälliges, durch das physiologische Gleichwertigkeit der Zellen nicht aufgehoben wird.

Diese letztere ist das Hauptmoment, das allgemein physiologisch in Betracht kommt, wenn wir die Protisten als Forschungsobjekte verwerten wollen.

Dementsprechend werden wir die Conjugaten und Oscillariaceen noch in den Kreis unserer Betrachtungen ziehen, obgleich die Zellen hier zu Zellfäden vereinigt sind. Auch die Zellkolonien der Protococcoideae, die Zellplatten von Scenedesmus, Pediastrum u. a., sowie die vielzelligen Volvoxkugeln können als Objekte herangezogen werden.

Die in ihrer systematischen Stellung nicht ganz klaren Myxomyceten (Mycetozoa) können im Plasmodienstadium gleichfalls als vielkernige Einzelzellen angesehen werden. Wohl müßten auch die Bakterien in den Kreis der physiologischen Objekte aus dem Protistenreich gezogen werden, aber die von der Physiologie völlig getrennte Entwicklung der Bakteriologie läßt es zweckmäßig erscheinen, von der Darstellung ihrer Verwertung im allgemeinen abzusehen.

Bei dieser Art der Abgrenzung kommen als Objekte einer Physiologie der Einzelligen die Vertreter folgender Gruppen in Betracht:

### Stamm Protophyta.<sup>1)</sup>

#### I. Heterocontae:

1. Chloromonadaceae
2. Confervaceae
3. Botrydiaceae
4. Chlorotheciaceae.

#### II. Acontae (Zygomycetes):

- a) Conjugatae.
  1. Mesotaeniaceae
  2. Zygnemaceae
  3. Desmidiaceae.
- b) Bacillariaceae.

- III. Chlorophyceae:
  - a) Volvocales
  - b) Protococcales
  - c) Ulotrichales
  - d) Siphonocladiales
  - e) Siphonales.

Stamm Protozoa.<sup>2)</sup>

- I. Unterstamm: Plasmodroma, Doflein.
  - I. Klasse: Rhizopoda, v. Siebold.
    - I. Ordnung: Amoebina, Ehrenberg,
    - II. " Heliozoa, Haeckel,
    - III. " Radiolaria, Johannes Müller,
    - IV. " Foraminifera, d'Orbigny,
    - V. " Mycetozoa, de Bary.
  - II. Klasse: Magstigophora, Diesing.
    - I. Unterklasse: Flagellata, Cohn em. Bütschli.
      - I. Ordnung: Protomonadina, Blochmann,
      - II. " Polymastigina, Bütschli u. Blochmann,
      - III. " Euglenoidina, Klebs,
      - IV. " Chromomonadina, Blochmann,
      - V. " Phytomonadina, Blochmann.
    - II. Unterklasse: Dinoflagellata, Bütschli.
      - I. Ordnung: Adinida, Bergh,
      - II. " Dinifera, Bergh.
    - III. Unterklasse: Cystoflagellata.
  - III. Klasse Sporozoa:
    - I. Unterklasse: Telosporidia, Schaudinn.
      - I. Ordnung: Cocidiomorpha, Doflein,
      - II. " Gregarinidea, Aimé, Schneider u. Doflein.
    - II. Unterklasse: Neosporidia Schaudinn.
- II. Unterstamm: Ciliophora Doflein.
  - I. Klasse: Ciliata.
    - I. Ordnung: Holotricha, Stein,
    - II. " Heterotricha, Stein,
    - III. " Oligotricha, Bütschli,
    - IV. " Hypotricha, Stein,
    - V. " Peritricha, Stein.
  - II. Klasse: Suctoria, Bütschli.

Die vierte große Klasse der Protozoa, die Sporozoën, sind bisher noch kaum für die physiologische Forschung nutzbar gemacht worden, obgleich sie z. B. in den Gregarinen aller Wahrscheinlichkeit nach Objekte bieten würde, die für die Bearbeitung mancherlei Fragen geeignet sein dürften.

Eine nutzbringende Verwertung des formenreichen Materials, das die Protisten bieten, setzt zunächst systematische Kenntnisse über diesen Tierstamm voraus. Nur bei genügendem Überblick über den Artenreichtum, der hier herrscht, werden sich immer geeignete Objekte für jede allgemein-physiologische Frage finden.

Die grundlegende Darstellung unserer gesamten Kenntnisse über Protozoen enthält Bütschlis<sup>3)</sup> Bearbeitung in Bronns „Klassen und Ordnungen“. Eine neuere umfassende Darstellung gibt Lang.<sup>4)</sup>

Zur Orientierung über die Systematik dienen: Blochmann<sup>5)</sup> für Protozoen des Süßwassers, ebenso Mez,<sup>6)</sup> die beide gute Bestimmungstabellen enthalten, Rhumbler<sup>7)</sup> für die Reticulosa (Nuda und Foraminifera). Brandt<sup>8)</sup> für koloniebildende Radiolarien; Haeckel<sup>9)</sup> für die Gesamtheit der Radiolarien. Schaudinn<sup>10)</sup> für Heliozoa. Stein<sup>11)</sup> für Ciliate Infusorien. Für die Biologie und Systematik der Algen gibt Oltmanns<sup>12)</sup> alles erforderliche.

### Die Materialgewinnung.

Die Beschaffung reichlicher Mengen verschiedener Protisten zum Zweck physiologischer Versuche ist nicht immer mit der wünschenswerten Sicherheit zu erreichen.

Der Mangel geeigneter Züchtungsmethoden macht sich hier sehr unangenehm fühlbar. Nur wo derartige Methoden entwickelt worden sind, was besonders bei dem Studium der Algen jetzt durchgängig der Fall ist, wird man von den groben Zufälligkeiten der Gewinnung des Protistenmaterials unabhängig. Auf die Züchtungsmethoden wollen wir noch besonders eingehen, hier aber zunächst die Gewinnung des Rohmaterials besprechen.

Stets leicht und in Mengen zu haben sind die Oscillarien (Cyanophyceae), die in fast jedem Grabenwasser enthalten und sehr anspruchslos sind. In bedeckten flachen Glasschalen kann man sie, ohne irgend welche besondere Maßnahmen, unbegrenzt im Laboratorium halten. Alte Gläser voll Graben- oder Teichwasser, die sonst außer Bakterien nichts lebendes mehr enthalten, beherbergen fast stets die spangrünen Watten der Oscillarien.

Auch unter den Conjugaten haben wir Formen, die leicht in beliebiger Menge zu haben sind, besonders Spirogyra oder Cladophora, die in Tümpeln und Teichen oft in gewaltigen Paketen treiben, auch meist aus den Wasserbehältern der Gewächshäuser, in botanischen Gärten zu bekommen sind.

Beim Studium der Chlorophyceen ist man schon mehr auf gutes Glück angewiesen, denn *Pediastrum* und *Scenedesmus* findet man selten in großen Massen und auch *Volvox* nicht gerade häufig, doch kann man bei einigem Suchen meist mit Sicherheit auf die letztere Form in genügender Menge rechnen.<sup>13)</sup> Steht ein Seewasseraquarium zur Verfügung, so ist z. B. *Caulerpa* leicht vorrätig zu halten.

So verbreitet auch die Diatomeen in jedem Grabenwasser sind, findet man sie doch kaum in solchen Mengen, daß ein Experimentieren leicht wäre, und beim Fange der sehr empfindlichen Plasmodien der Myxomyceten erlebt man vollends viele Enttäuschungen. In feuchter Jahreszeit ist auf dem faulenden Laub am Boden der Buchenwälder die Aussicht auf Auffinden dieser interessanten Wesen am größten.

Zum Studium der Amöben kann man gleichfalls die Objekte in Grabenwasser [z. B. *Pelomyxa palustris* Fig. 1] oder faulenden Infusen finden, doch führt hier eine andere Methode rascher zum Ziel. Im Enddarm der Küchenschabe (*Periplaneta orientalis*) lebt die sehr bewegliche Amöba *blattae*, ein für viele Versuche sehr brauchbares Objekt (s. Rhumbler). Man erhält

sie leicht in einer Aufschwemmung des schwarzen Enddarminhalt mit physiologischer Kochsalzlösung, doch müssen die Schaben frisch gefangen sein, da sie bei längerer (auch nur einen Tag) dauernder Gefangenschaft den Enddarminhalt entleeren und dann keine Amöben mehr zu finden sind.

Eine kleine Limaxeform der Amöben erhält man sehr leicht in Massen, wenn man Heu- oder Strohinfuse einige Tage faulen läßt. Man legt ein Deckglas eine Weile auf das hauptsächlich von Bakterienzoozoen gebildete Oberflächenhäutchen und spült es dann vorsichtig ab. Die Amöben haben sich am Deckglase festgesetzt und werden nicht mit abgespült. Diese Methode liefert in den meisten Fällen, doch nicht ausnahmslos derartige kleine Amöben, die aber im weiteren Verlauf der Fäulnis aus den Infusen verschwinden.

Von anderen Vertretern der Lobosa sind *Arcella* und *Diffugia* leicht in Gräben und Tümpeln zu erhalten und vermehren sich zuweilen in den Glasschalen, die ihnen im Laboratorium zum Aufenthalt dienen, stark.

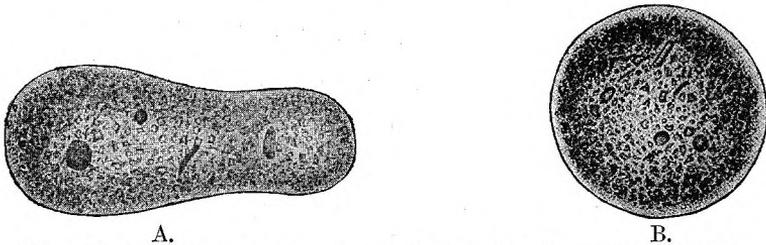


Fig. 1. *Pelomyxa palustris*. A. ungereizt kriechend; B. gereizt kontrahiert.  
(Nach Verworn, Allgemeine Physiologie.)

Das prächtige Objekt, das die Heliozoen in *Actinospharium* Eichhorni bieten, ist in manchen Gegenden häufig, auf sehr kalkreichem Boden dagegen selten. Die Tiere sind so groß, daß man sie bequem mit bloßem Auge diagnostizieren und mit einer Glasröhre einzeln herausfangen kann.

Die Thalamophoren sind für den am Meere experimentierenden Biologen ein leicht zu beschaffendes Material, so die prächtige Form *Orbitolites* (s. Fig. 2), halten sich aber auch in Seewasseraquarien lange. Die Verwendung der Radiolarien als Objekte ist gleichfalls auf marine Stationen beschränkt. Hier tritt *Collozoum* und *Sphärozoum* zu manchen Zeiten in Masse im Plankton auf. Von den Flagellaten kann man *Englena viridis* oft in unermesslichen Mengen haben, die schmutzigsten Ententümpel der Dörfer bieten hier reichste Ausbeute. Als Planktonwesen tritt *Peridinium* oft massenhaft auf, und am Meer ist *Noctiluca* (s. Fig. 3) oft in beliebiger Menge zu haben. Von den Ciliaten Infusorien kann man drei Arten immer haben: *Paramecium* (s. Fig. 4), *Colpidium* (s. Fig. 15) und *Opalina*. *Paramecium* und *Colpidium* sind sicher die am leichtesten zu handhabenden Objekte unter den Protisten. Jede Handvoll Heu, Stroh oder Kopfsalat, die man mit Brunnen- oder Leitungswasser übergossen im vor Staub geschützten Gefäß faulen läßt, liefert mit Sicherheit Unmengen von *Colpidien*, und meist treten etwas später auch *Paramecien* auf. Sollten die letzteren fehlen, so genügt eine Impfung mit einer geringen Anzahl *Paramecien*, wie sie von natürlichen Standorten, Gräben und Tümpeln leicht zu haben sind, um große

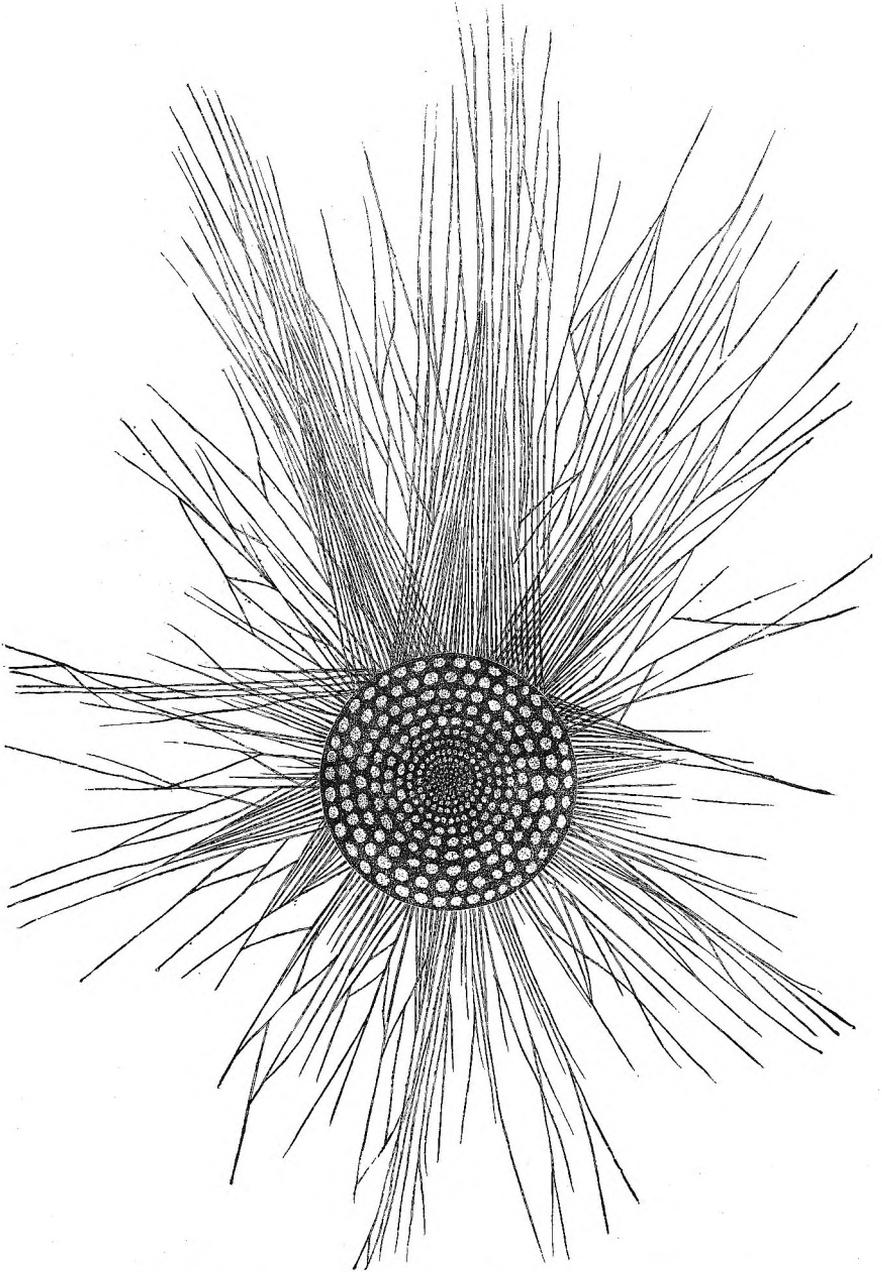


Fig. 2. *Orbitolites complanatus*, polythalamae Foraminifere.  
(Nach Verworn, Allgemeine Physiologie.)

Mengen zu erzielen. Man hält sich die Paramaecien und Colpidienkulturen zweckmäßig stets vorrätig, indem man etwa alle 4 bis 6 Wochen einmal ein

neues Kulturglas aufstellt und nachdem in ca. 3—5 Tagen eine genügende Entwicklung von Bakterien stattgefunden hat, etwas paramaecienhaltige Flüssigkeit hinzufügt. Entnimmt man aus einem Kulturglase auf einmal ein größeres Quantum Flüssigkeit um große Mengen Tiere zu erhalten, so ist es zweckmäßig, den Verlust durch Wasser zu ersetzen. Zwei oder drei Tage nach solcher Auffrischung ist die Kultur wieder stark genug um einen gleichen Aderlaß zu vertragen. Manche Kulturen vertragen einen solchen Abbau fast unbegrenzt, andere gehen dabei bald ein.

Mitunter verderben Heuinfuse oder liefern von Anfang an keine Ciliaten Infusorien, man sieht dies mit Sicherheit daran, daß die Aufgußflüssigkeit, die normalerweise eine hell- bis dunkelgelbe Farbe hat, schmutziggrün erscheint, aus solchen Kulturen wird nie mehr etwas, auch sehr starke Schimmelpilzentwicklung auf der Oberfläche ist meist ein ungünstiges Zeichen.

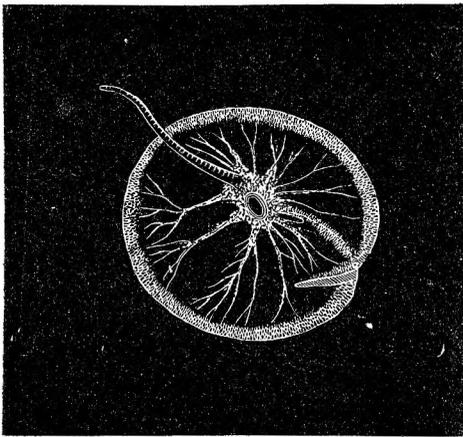


Fig. 3. *Noctiluca miliaris*.  
(Nach Verworn, Allgemeine Physiologie.)

Auch die reichsten Kulturen von *Paramaecium* zeigen nach einer gewissen Zeit Erscheinungen der „Depression“. Calkins<sup>14)</sup> hat etwa alle 3 Monate derartige Zustände auftreten sehen, in denen die meisten Tiere sterben. Durch geeignete Maßnahmen lassen sich derartige Kulturen wieder auffrischen.

Statkewitsch<sup>15)</sup> empfiehlt vier Mittel hierzu:

1. Die sukzessive Durchspülung: Durch einen geeigneten Heber läßt man die Kulturfüssigkeit ganz langsam abfließen, während gleichzeitig aus einem Trichter mit Kautschukrohr eine der abfließenden gleiche Wassermenge zutropft. Zu- und Abfluß werden durch Anlegen von Klemmen derart reguliert, daß der Wasserstand im Glase immer derselbe bleibt. Um ein Glas von

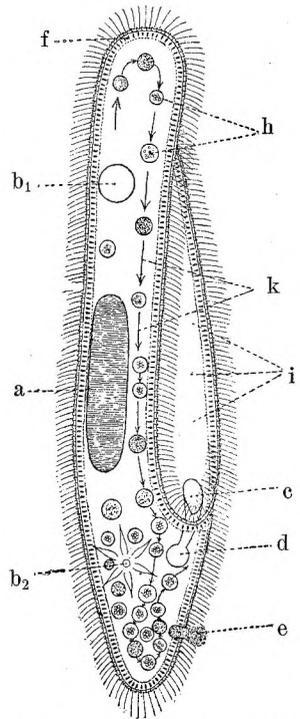


Fig. 4. *Paramaecium aurelia*  
(Holotriches Infusor).  
a. Macronucleus, b<sub>1</sub> u. b<sub>2</sub> Systoletten  
(contractile Vacuolen), c. Zellmund  
(Cytostom), d. Cytopharynx (Zell-  
schlund), e. Zellafter (Cytoproct),  
f. Trichocysten.

15 cm Höhe und 6 cm Durchmesser zu durchspülen braucht man 1 bis 2 Stunden.

2. Einfaches Umrühren der Kultur.

3. Neutralisation mit Natriumkarbonat: Sobald die oberflächlichen Schichten deutlich sauer geworden sind, tritt stets eine Depression in der Vermehrung der Tiere ein, die durch Neutralisation gehoben werden kann.

4. Endlich wirkt ein Zusatz geringer Mengen von gepulvertem Calciumphosphat sehr günstig auf die Belebung der Kulturen.

Auch für die Kultur von Stentor liegen einige Angaben vor. Peters<sup>16)</sup> fand, daß bei der Aufzucht dieses Ciliaten auf Sauerstoffversorgung kein besonderer Wert gelegt zu werden braucht, daß aber zu starke Fäulnis, die mit erheblicher Säuerung verbunden ist, unbedingt vermieden werden muß. Daher ist ein Heuinfus nicht geeignet, in dem zu viel Säure gebildet wird, besser ist eine Abkochung von Blättern oder Schilf, die mit Paramaecien, Englenen u. a. geimpft wird, die dem Stentor als Nahrung dienen.

Die Zunahme der Säuerung einer solchen Kultur wurde mit n/100 Lösungen titrimetrisch verfolgt. Es wird die Säuremenge in 5 ccm bestimmt unter Benutzung von Phenolphthalein als Indikator. Werden auf dieses Volumen ca. 0,7 ccm n/100 NaOH verbraucht, wie dies im Heuinfus, dessen Säuregehalt rasch steigt, schon am 3. Tage der Fall ist, so ist die Reaktion für Stentor bereits zu sauer. Außerdem müssen der Kultur Salze zugefügt werden. Es ergab sich folgende Mischung als günstig; auf 100 000 Teile kommen:

CaCl <sub>2</sub>	55 Mol
NaNO <sub>3</sub>	15 „
MgSO <sub>4</sub>	15 „
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	15 „

also 100 Mol im ganzen, doch kann man die Salzmenge auch auf 200 bis 300 Mol steigern. Es wurden Gefäße von 4000 ccm Inhalt verwendet.

Anders ist die Gewinnung von *Opalina ranarum*. Dieses holotriche Infusor(?) ist ein fast ständiger Bewohner des Rektums des Frosches, ein Fundort, an dem sich außerdem auch nicht selten *Balantidium entozoon* und häufig *Nyctotherus cordiformis* vorfindet. Die Technik der Gewinnung ist derart, daß man das herausgenommene Rektum aufschlitzt und den meist ziemlich konsistenten Kotballen, den es enthält, herausrollt, so daß die Schleimhaut möglichst frei von Resten des Darminhaltes wird, was gewöhnlich leicht gelingt. Die Parasiten sitzen nicht in dem Kotballen, sondern in der Schleimschicht, die zwischen diesem und dem Epithel des Rektum liegt. Das möglichst saubere Rektum wird in einer Salzlösung bestimmter Zusammensetzung (s. u.) abgeschwenkt, wodurch man rasch alle Tiere erhält. Als Salzlösung eignet sich physiologische Kochsalzlösung nur, wenn man ganz kurz dauernde Versuche z. B. über Galvanotaxis beabsichtigt, für alle länger dauernden nimmt man zweckmäßig eine Lösung, die etwa folgende als gut erprobte Zusammensetzung hat:

0,8 proz. NaCl	100,0 ccm
Seignettesalz 30proz. Lösung	5,0 ccm
Aq. dest.	ad 400,0.

Man darf die Opalinen nicht längere Zeit, bevor man sie zum Versuch verwendet, im Uhrschälchen stehen lassen, da der Sauerstoff der Luft

schädlich auf sie einwirkt. Diese selbe Vorsichtsmaßregel ist bei *Spirostomum ambiguum* und wahrscheinlich auch bei *Bursaria truncatella* notwendig.

R. Hertwig züchtet *Dileptus* und *Actinosphaerium* unter Fütterung mit *Stentor coeruleus* und erhält außerdem Unterschiede im Verhalten der Tiere durch Züchtung bei verschiedenen Temperaturen, deren drei verwendet werden: Kalkulturen bei der Temperatur der Münchener Wasserleitung ca. 8°, Zimmertemperatur und Thermostatentemperatur von 25° C.

Der zur Fütterung notwendige *Stentor coeruleus* ist häufig in Massen zu finden und in Kultur zu halten (s. o.).

In bezug auf die Erlangung aller anderen Ciliaten Infusorien ist man mehr oder weniger auf den Zufall angewiesen. Am leichtesten sind noch Vorticellen zu bekommen. Sie bedecken als weißliche Überzüge oft Stücke faulenden Holzes im Wasser und sind bei einiger Übung mit bloßem Auge leicht zu erkennen. Unterscheidung von Pilzüberzügen und anderen Dingen ermöglicht das deutlich sichtbare Zusammenzucken der Vorticellen auf mechanische Reizung und die folgende langsame Streckung. Auch auf Entomostraken, besonders Cyclopsarten und auf Gammarus wachsen häufig Vorticellinen in großen Mengen, besonders Zoothamnien (diese zucken auf Erschütterungen nicht zusammen). Die wegen ihrer hochdifferenzierten Bewegungsorganellen besonders interessanten Hypotrichen, findet man manchmal reichlich in den Heuinfusen von *Paramecium* z. B. *Stylonychia* (s. Fig. 27), *Oxytricha* (s. Fig. 5).

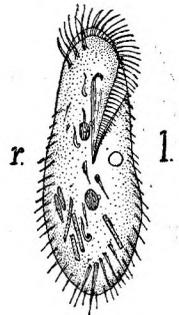


Fig. 5. *Oxytricha fallax*. Ein Hypotriches Infusor. (Nach Jennings.)

Wer mit Ciliaten Infusorien und überhaupt mit Protisten arbeiten will, darf sich die Mühe nicht verdrießen lassen, und alle Gräben und Tümpel seiner näheren Umgebung auf Objekte absuchen. Man lernt sehr bald die Stellen kennen, die gute Ausbeute liefern.

### Die Reinzüchtung der Protisten.

Die methodische Reinzüchtung von Protisten, entsprechend der bakteriologischen Methodik der Reinkulturen, steckt noch vollständig in ihren Anfängen, und fast nur in bezug auf die Algen liegen bereits gute Resultate vor. Nur hier sind auch rein gezüchtete Objekte der physiologischen Forschung nutzbar gemacht worden.

Von Protozoen sind bisher nur *Paramecien* und einige Amöben gezüchtet worden, und auch hier ist es nicht möglich Reinkulturen zu erhalten, sondern im günstigsten Falle sind Mischkulturen zu erzielen, die außer der Amöbe oder den *Paramecium* noch eine Bakterienspezies enthalten.

Seit Beijerinck (1890)<sup>17)</sup> die ersten Reinkulturen mit Algen machte, sind viele Forscher seinem Beispiel gefolgt; hier sollen nur einige der wichtigsten Angaben Platz finden. Tischutkin<sup>18)</sup> benutzt 1 Proz. Agar Agar in gewöhnlichem Brunnenwasser ohne irgend welche Beigabe. Die größeren Algen werden in sterilem Wasser abgewaschen, mit steriler Schere zerschnitten und Teile auf den Nährboden geimpft. Den ersten Erfolg sieht man schon nach wenigen Tagen. Bei dieser Art der Kultur wachsen be-

sonders gut die Palmellaceae, Desmidiaceae und Diatomaceae, auch Oscillarien wurden gezüchtet.

Richter<sup>19)</sup>, der sich besonders mit der Reinzucht von Diatomeen beschäftigte, gibt folgendes Verfahren an:

10 g Agar Agar werden 2 bis 3 Tage in fließendem Leitungswasser gewaschen, dann einen Tag in mehrfach gewechseltem, destilliertem Wasser abgespült und bei 100° in dest. Wasser gelöst, filtriert und das Filtrat auf 1 l mit dest. Wasser ergänzt. Dazu kommen folgende Salze:

0,2 g  $\text{KNO}_3$

0,2 g  $\text{K}_2\text{HPO}_4$

0,2 g  $\text{MgSO}_4$

0,2 g  $\text{CaSO}_4$

und Spuren  $\text{FeSO}_4$ .

Auch auf Gelatine gelingen Reinkulturen, bei denen der Zusatz des Kaliumnitrats unterbleiben kann. Die Trennung der Diatomeen von anderen Organismen geschieht durch Agar Agar Kulturen, alle allgemeinen Manipulationen sind dieselben wie in der bakteriologischen Technik. Gezüchtet und zu physiologischen Untersuchungen verwendet wurden *Nitschia palea* und *Navicula minuscula*.

In sehr einfacher Weise gelang es Zumstein<sup>20)</sup> bei *Euglena gracilis* zu Reinkulturen zu gelangen. Diese Form entwickelt sich vortrefflich in steriler, organischer Nährlösung z. B. Erbsenwasser, dem 2 Proz. Zitronensäure zugesetzt sind. Der Säurezusatz verhindert Bakterienentwicklung fast völlig und bei wiederholter Anwendung der Methode gelangt man bald zu völlig bakterienfreien Kulturen.

Für die Züchtung der Amöben gibt Beyerinck<sup>21)</sup> mehrfache Anweisungen, doch betont er besonders, daß es ihm nicht möglich gewesen sei, Reinkulturen zu bekommen, denn die Amöben ernähren sich anscheinend ausschließlich mit geformter Nahrung. Mit Bakterien zusammen lassen sie sich in der verschiedensten Weise züchten. Zwei Formen: *Amöba nirophila* und *A. zymophila* lassen sich mit Nitrobakterien, Hefen- und Essigbakterien zusammen auf verschiedenen Nährböden ziehen.

Einen sehr guten Nährboden für Amöben fand Beyerinck<sup>22)</sup> ferner bei Züchtung von Azotobakter. Auf einem Nährboden, der aus 2 Teilen Mannit, 2 Teilen Agar und 0,02 Teilen  $\text{K}_2\text{HPO}_4$ , auf 100 Teile Wasser besteht, wächst Azotobakter üppig und oft treten in großer Menge daneben Amöben auf, die von Azotobakter leben und große Verheerungen in seinen Beständen anrichten. Sie überziehen als Schleier die Platte und können als Ausgangsmaterial für kombinierte Züchtung mit anderen Bakterien usw. benutzt werden.

Zaubitzer<sup>23)</sup> fand die Somatose als sehr geeignet zur Begünstigung des Amöbenwachstums auf festen Nährböden bei geringer Bakterienentwicklung. Doch scheinen sich die hohen Konzentrationen (2,5 Proz.), die der Autor vorschlägt, nicht bewährt zu haben, und Gottstein<sup>24)</sup> empfiehlt daher folgenden Nährboden:

1 Proz. Agar in 0,6 Proz. Kochsalzlösung gekocht und zu je 10 ccm Agar 1 ccm einer 1proz. Somatoselösung.

Henri Mouton<sup>25)</sup> züchtete Amöben auf einer nährstoffarmen 2proz. Ge-

latine und erhielt sie zwar nicht rein, doch überwucherten die Amöben die gleichzeitig auftretenden Bakterien. Es gelang die Amöben, die mit allerlei Bakterien zusammen auftraten, mit nur einer Spezies vereinigt zu züchten, und zwar wurde meist *Bacterium coli commune* mitgezüchtet, doch konnten auch andere Formen verwendet werden.

Tsujitani<sup>26)</sup> gibt einige Anweisungen, nach denen auf Agar Platten Infusorien neben Bakterien und Amöben gezüchtet werden könnten. Sein Nährboden besteht aus 20 Teilen Strohdekot, 50 Teilen Bouillon, 5 Teilen Agar auf 1000. Den Nährboden läßt er im Reagensglase schräg erstarren und macht auf der Oberfläche ein System verzweigter Ritzen, in denen sich das Kondensationswasser ansammelt und in denen sich Infusorien und Amöben entwickeln.

In einer größeren Untersuchung, die auch die früheren Bestrebungen auf diesem Gebiete eingehend würdigt, hat Vahlkampf<sup>27)</sup> die Methoden zur Züchtung von *Amöba limax* entwickelt.

Das Rohmaterial wurde aus einem Strohinfus (nicht Heu, das zu viele verschiedenartige Sporen enthält) gewonnen. Das Stroh wird häckselartig zerkleinert, und sobald sich auf der Oberfläche des Infuses eine Kahlhaut gebildet hat, d. h. etwa vom dritten Tage an, kann man erwarten Amöben zu finden, besonders wenn man Strohstückchen auf einem Deckglase abstreicht.

Als brauchbare feste Nährböden zur Isolierung der Amöben mit einer Bakterienart gibt Vahlkampf an: 1,5 Proz. Agar oder 10 Proz. Gelatine ohne jeden Zusatz, oder mit Nährstoff Heyden 1—2 Proz., Nutrose, Somatose oder Witte Pepton 1—2 Proz., auch eignet sich als Nährboden eine 5proz. Gallerte von *Fucus crispus* oder ein Stärkekleister, der etwa die Konsistenz des Agar hat.

Die Reaktion wird am besten neutral oder schwach alkalisch gehalten. Eine Züchtung der Amöben ohne Bakterien ist auch hier nicht gelungen.

## II. Allgemeine Methoden.

Eine Reihe von Manipulationen erweist sich so häufig zur Erforschung des Lebens der Protisten notwendig, daß wir sie hier zusammenhängend behandeln wollen.

Das Reinigen der Objekte: Die Versuchstiere, die in größerer Menge zu haben sind: *Paramecium* und *Colpidium*, erhält man stets in stark verunreinigtem Wasser, so daß dem Gebrauch vielfach eine Reinigung vorhergehen muß. Ist die Kultur sehr dicht bevölkert, so genügt es, eine ca. 1,5—2,0 m lange weite Glasröhre etwa zur Hälfte mit der Kulturflüssigkeit und dann ganz mit Leitungswasser zu füllen und senkrecht aufzustellen. Im Laufe von 3 bis 4 Stunden hat sich die Hauptmasse der *Parameccien*, da sie negativ geotaktisch sind, am oberen Ende der Röhre angesammelt, die *Colpidien* brauchen meist etwas länger. Hierdurch hat man die Bakterien fast und alle groben Verunreinigungen völlig abgetrennt. Nur ist auf eins zu achten: das Kulturwasser und das darauf gegossene Leitungswasser setzen sich in der Röhre oft sehr scharf gegeneinander ab und dann kann es

vorkommen, daß an dieser Grenze die negativ geotaktische Ansammlung erfolgt. Man tut daher gut durch leichtes Hin- und Herneigen der Röhre die Grenze der beiden Flüssigkeiten zu verwischen.

Braucht man nur wenige Tiere, so kann man den Versuch auch im Reagensglase machen und hat dann schon nach höchstens einer Stunde die leidlich gereinigten Objekte.

Sind die Kulturen nicht sehr reich an Tieren, so empfiehlt es sich, bevor man durch Geotaxis reinigt eine Anreicherung der Tiere vorzunehmen. Mit einer kleinen Handzentrifuge schleudert man im Laufe von einer halben Minute alle Paramaecien oder Colpidien in das verjüngte Ende des Zentrifugenröhrchens und gießt dann rasch die oberhalb desselben befindliche Flüssigkeit ab, wobei kaum ein Tier verloren geht. Hat man, je nach der Bevölkerungsdichte der Kultur, 5- oder 10mal den Inhalt eines Röhrchens ausgeschleudert, so spült man die Paramaecien, die als dicker weißer Pfropf im verjüngten Ende sitzen, heraus und kann sie nun durch einmaliges Aufsteigenlassen in der Röhre von den Zentrifugenpartikeln und anderen groben Verunreinigungen trennen, die mit abzentrifugiert wurden.

Bei häufigem langdauerndem Zentrifugieren mit großer Geschwindigkeit (z. B. im Hämatokrit zur Volumbestimmung) werden die Tiere leicht geschädigt und man sieht oft im Laufe der nächsten Stunden viele absterben. Das schwache Zentrifugieren, das zur Reinigung ausreicht, darf als völlig unschädlich angesehen werden.

Auswaschen: Ist es für besondere Zwecke erwünscht die Tiere nicht in Leitungs-, Brunnen- oder Regenwasser zu haben, so kann man sie auch — jedenfalls die Paramaecien und Colpidien — ohne weiteres in destilliertes Wasser bringen. Es empfiehlt sich hierbei so vorzugehen, daß man die Tiere zunächst durch Geotaxis anreichert, wobei dem Kulturwasser in der beschriebenen Weise Aqua dest. zugefügt wird. Die derart an Wasser von halbem osmotischen Druck gewöhnten Tiere lassen sich durch Abzentrifugieren in einem sehr kleinen Volumen vereinigen und dann in der notwendigen Menge destillierten Wassers verteilen. Irgend welche Schädigungen treten dabei nicht auf. Auch die zarten und gegen manche Eingriffe so hinfalligen Spirostomen halten die Übertragung in Aqua dest. sehr gut aus, nur muß man dasselbe vorher ausgekocht haben, damit es nicht zu viel Sauerstoff enthält (s. u.). Lange kann man dann allerdings die Tiere nur unter Beachtung besonderer Kautelen erhalten.

Das Zählen der Objekte: Bei vielen Versuchen, bei denen man mit großen Massen von Protozoën arbeitet, besonders also mit Paramaecium und Colpidium, ist es wesentlich, die Zahl der Objekte zu kennen. Man improvisiert hierzu eine Blutkörperchen-Zählvorrichtung. Die angereicherten und gereinigten Tiere werden in einer gemessenen Wassermenge durch Umschütteln gut verteilt und hiervon 1 ccm abgenommen, der auf einem Objektträger sich als großer Tropfen ausbreiten läßt. Durch Zusatz von etwas Säure oder Jodkalium tötet man die Tiere ab, und bedeckt nun den Tropfen mit einem zweiten Objektträger, auf dem man sich eine Teilung in Quadrate eingeritzt hat. Sie braucht nicht genau zu sein, da man doch die Zahl aller Tiere bestimmt, die in dem (halben oder) ganzen ccm enthalten sind, indem man Viereck für Viereck auszählt. Da es keinerlei Schwierigkeiten macht

ca. 100 Tiere zu zählen (eine Lupe genügt als optisches Hilfsmittel, bei einiger Übung zählt man ebensogut mit bloßem Auge), so ist die Methode praktisch wenn man nicht mehr als ca. 50 000 Tiere in 250 ccm hat, was meist der Fall sein wird, anderenfalls stellt man sich entsprechende Verdünnungen her. Durch Zentrifugieren kann man das Wasservolumen, das die Tiere enthält wieder beliebig verringern.

**Volumetrie:** Zur ungefähren Orientierung über das Volumen eines Protisten genügt die Messung in den drei Dimensionen und Berechnung des Inhaltes unter Berücksichtigung der speziellen Formverhältnisse. Solche Berechnungen geben schon ganz gute Werte (Jensen). Genauer ist wohl die Methode, die an die Volumbestimmung der roten Blutkörperchen anknüpft, die Bestimmung vermittelt des Haematokrit. Eine größere Menge (ca. 50 000 genügen) gut gereinigter Paramaecien wird bis zur Volumenkonstanz im Haematokrit zentrifugiert, das Volumen abgelesen, die Tiere in einer bestimmten Wassermenge aufgeschwemmt und die Zahl, wie oben angegeben, bestimmt. Da das Volumen mit dem Ernährungszustande ziemlich schwankt, so muß zu vielen Zwecken diese Bestimmung jedem Versuche vorangehen. Eine Schädigung scheinen die meisten Tiere durch das Zentrifugieren im Haematokrit nicht zu erleiden (Barratt), doch sterben oft in den nächsten Stunden nach dieser Behandlung ein nicht zu vernachlässigender Prozentsatz ab.

Um das Gewicht der Tiere kennen zu lernen fehlt nach Bestimmung des Volumens nur noch das

**Spezifische Gewicht.** Jensen<sup>28)</sup> verwandte hierfür die Methode der Suspension der Tiere in Flüssigkeiten von verschiedenem spezifischem Gewicht. Die Lösung, in der die Tiere gerade nicht mehr untersanken, gab das gesuchte spez. Gewicht an. Zur Verwendung kamen Lösungen von Kaliumkarbonicum, die außer Schrumpfungen nur geringe Veränderungen im Plasma der Paramaecien hervorriefen. Das spez. Gewicht ergab sich zu 1,25.

### Beobachtungen am lebenden Objekt.

Eine der wichtigsten Methoden zur Erforschung des Lebens der Protisten ist die einfache Beobachtung der lebenden Objekte, die ganz ohne besonders experimentelle Hilfsmittel schon mancherlei physiologisch Interessantes lehrt.

Sollen nur schwache Vergrößerungen angewandt, z. B. Tiere direkt im Aquarium beobachtet werden, so genügt das Horizontalmikroskop.

Für die meisten Zwecke ist es aber wünschenswert, die Objekte auf den Objektisch bringen und bei stärkerer Vergrößerung betrachten zu können.

Soll sich die Untersuchung nur auf kurze Zeit erstrecken, so kann man im hängenden Tropfen beobachten, der eventuell auf einem heizbaren Objektisch anzubringen ist, wie ihn Fig. 6 in einer sehr einfachen und zweckmäßigen Form zeigt.

Für länger währende Versuche, besonders Züchtungen ganzer Generationskreise eignen sich sehr gut sog. Mikroaquarien, wie sie z. B. von Cori und von Schaudinn angegeben sind. Schaudinn<sup>29)</sup> benutzt hierzu einen Objektträger, in den mit der Schmirgelscheibe ein viereckiger Einschnitt geschliffen ist, der bis zur Mitte reicht. Auf die beiden Flächen wird mit

kochendem, schnell erhärtendem Kanadabalsam je ein großes Deckglas aufgekittet, außerdem seitwärts schmale Glasstreifen zum Schutz. Für die meisten Süßwasserprotozoen genügt eine Fläche von 1 qcm bei 3 mm dickem Objektträger. Zur reichlichen Versorgung mit Sauerstoff kann man Algenfäden in das Aquarium legen, oder mittels eines Wollfadens, der aus einem höher stehenden Gefäß mit frischem Wasser hineinhängt, eine Durchspülung einrichten.

Die Mikroaquarien werden in feuchter Kammer aufbewahrt, am besten in Einschnitten eines kubischen Holzblockes.

Ist es für die Beobachtung am lebenden Objekt nötig nur ein einziges Exemplar im Präparat zu haben, so gelingt diese Isolierung leicht, indem man eine kapillar ausgezogene Glasröhre als Pipette benutzt und unter dem Mikroskop die gewünschte Form in das Röhrchen aufsaugt, was bei einiger Übung gar keine Schwierigkeit macht.

Für alle Beobachtungen an lebenden Ciliaten Infusorien liegt eine Hauptschwierigkeit in den raschen Bewegungen, die die Mehrzahl ausführt, und

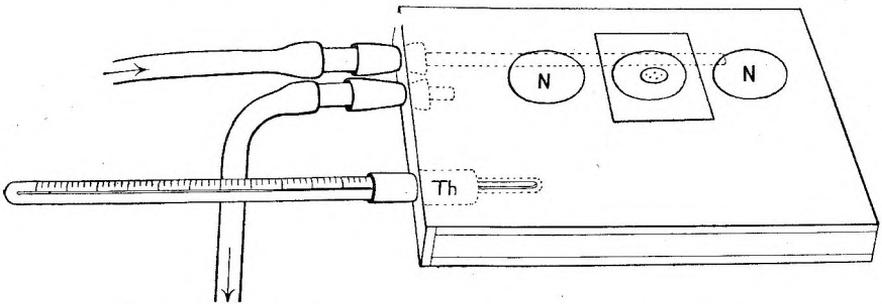


Fig. 6. Heizbarer Objekttraher für Beobachtung im hängenden Tropfen.  
(Aus Verworn, Physiologisches Praktikum.)

so hat man sich schon lange bemüht, auf eine Weise, die die Tiere nicht schädigt, eine Verlangsamung der Bewegungen zu erreichen. Nach Stahls Vorgang empfahl Jensen<sup>30)</sup> hierfür eine 3proz. Gelatine, die man derart mit Infusionsflüssigkeit mischt, daß die Mischung etwa 1 Proz. Gelatine enthält. Auch Ludloff<sup>31)</sup> bediente sich derselben Methode, doch gehört eine ziemliche Übung dazu, stets die richtige Konzentration zu treffen, oft ist ein Präparat nicht brauchbar, weil die Gelatine zu steif oder zu flüssig ist.

Um diesen Übelständen abzuhelpfen hat Statkewitsch<sup>32)</sup> eine Reihe von Stoffen angewandt, die sich unter Schleimbildung kolloidal lösen, z. B. Alga Caragaheen, Samen Cydoniae, Samen Psyllii, Gummi tragacanthae. Diese schleimigen Stoffe werden nicht im Augenblick des Gebrauchs dem einzelnen Präparat zugesetzt, sondern in die Züchtungsgläser gebracht, in denen sie durch ihre langsame Auflösung die Konsistenz des Mediums allmählich steifer und steifer machen. Man hat es dann ganz in der Hand, die Kultur in dem Zeitpunkt zu benutzen, wenn der gewünschte Konsistenzgrad erreicht ist. Für Caragaheen gibt Statkewitsch an: einige Stückchen werden in 0,5—1,0proz. Lösung von Natriumkarbonat abgewaschen

und auf 5—8 Tage der Kultur zugefügt. Kulturen denen derartige Konsistenz erhöhende Mittel zugesetzt sind, leben noch 4, 6—8 Wochen, und können durch Durchspülung (s. o.) länger am Leben erhalten werden.

Immerhin darf man sich nicht verhehlen, daß ein Medium erhöhter Konsistenz nicht unbedingt indifferent ist, und dass besonders bei höheren Graden der Steifigkeit die Entleerung der Vakuolen leidet, was stets als eine schwere Schädigung wird angesehen werden müssen.

Dieser Übelstand wird vermieden, wenn man sich der Thigmotaxis zur Immobilisierung der Tiere bedient. An Zoogloeahaufen, Detritus, Fließpapier gelangen die Ciliaten Infusorien, besonders *Paramecium* und *Colpidium*, oft zur völligen Ruhe, indem durch den Berührungsreiz der Cilienschlag gehemmt wird. Nierenstein<sup>33)</sup> hat diesen Zustand mit Erfolg benutzt um die normalen Verdauungserscheinungen der Tiere zu studieren, und wenn es auch nicht immer gelingt, ein Tier durch genügend lange Zeit in vollständiger Bewegungslosigkeit zu erhalten, so ist es bei einiger Geduld doch möglich, selbst bei stärksten Vergrößerungen die erforderlichen Beobachtungen zu machen.

Für eine Reihe von Beobachtungen endlich, z. B. die Feststellung der normalen Entleerungsfrequenz der Systolekten, halte ich jede Behinderung der Bewegung für einen Eingriff, der in unkontrollierbarer Weise den Ablauf der Erscheinungen beeinflusst. Man muß in solchen Fällen an den frei schwimmenden Objekten beobachten, was nach einiger Übung sehr gut gelingt.

### Vitalfärbung.

Es ist zuweilen angenehm, bestimmte Plasmadifferentierungen, die näher untersucht werden sollen, durch Vitalfärbung auffälliger zu machen.

Am meisten ist hierzu das Neutralrot<sup>34)</sup> verwendet worden, das in außerordentlich verdünnten Lösungen zur Verwendung kommt, ähnlich geeignet ist Bismarckbraun. Insoweit Vitalfärbungen beim Studium der Verdauung nützlich sind, werden sie unten erwähnt werden. Im übrigen ist die methodische Verwendung bisher eine recht beschränkte gewesen. Außer den Nahrungsvakuolen färben sich mit Neutralrot bei *Paramecium* eine Reihe kleiner Körnchen unbekannter Bedeutung im Plasma sowie die Köpfe der Trichocysten.

Aus einem Gemisch von 0,05 Proz. Neutralrot und 0,05 Proz. Methyleneblau zu gleichen Teilen färben sich lebende Zellen rot, abgestorbene blau.<sup>35)</sup>

## III. Spezielle Methoden.

### 1. Die physikalisch-chemische Beschaffenheit der Protisten.

#### a) Der Aggregatzustand.

Zur Entscheidung der Frage in welchem Aggregatzustande sich der lebende Zellkörper bei Protisten befindet, bezw. welche physikalischen Besonderheiten er bietet, sind kaum spezifische Methoden angewendet.

Zum Studium der Erscheinungen der Plasmaströmung, die z. B. bei *Amöba blattae* besonders lebhaft ist, wurden keine besonderen Hilfsmittel benutzt, und zum Nachweis, daß die Plasmaströmung unabhängig von dem auf ihr lastenden Druck ist, wurden die großen Zellen von *Chara* oder

Nitella, also keine Protozoën verwendet (Rhumbler).<sup>36)</sup> Die Konstanz der Randwinkel an den Schalen der Foraminiferen, die Rhumbler entdeckte und für die Theorie des Aggregatzustandes verwertete, sind ebenfalls ohne weiteres der Messung zugänglich, und ebenso das kapillare Aufsteigen des Plasmas von Myxomyceten, das eine Folge des flüssigen Aggregatzustandes ist. In bezug auf eine Reihe von Versuchen zur Demonstration der Abweichungen im Verhalten lebender Zellen von den einfachen Flüssigkeitsgesetzen und ihre Erklärung aus der Schaumstruktur des Plasmas muß auf Rhumblers grundlegende Arbeiten hingewiesen werden.

#### b) Die chemische Zusammensetzung.

Die Hauptschwierigkeit beim Studium der chemischen Zusammensetzung der Protisten liegt darin, daß nur von wenigen Formen die genügenden Massen zu beschaffen sind, die zu einer Analyse ausreichen.

Der Wassergehalt ist bisher bei einem Radiolar Collozoum innerme, bestimmt, daß in großen Massen z. B. in Neapel zu haben ist. Vernon<sup>37)</sup> fand die Trockensubstanz nach Abzug der Salze des Meerwassers, die in den Tieren gelöst waren, zu 0,4 Proz. des frischen Gewichtes. Das ist im Vergleich zu dem mitunter noch niedrigeren Trockensubstanzgehalt anderer Seetiere, z. B. der Ctenophoren oder Medusen, nicht auffallend wenig, und wenn unter dem Mikroskop einzelne Protisten einen recht festen, konsistenten Eindruck machen, so muß man sich stets ihre geringe absolute Größe im Gedächtnis halten, bei der die Oberflächenspannung eine gewaltige Rolle für die Festigkeit spielt, so daß wir den Wert von ca.  $\frac{1}{2}$  Proz. Trockensubstanz wohl als einen Mittelwert ansehen können. Rechnen wir danach aus, wieviel Paramaecien nötig sind um 1 mg Trockensubstanz zu liefern, so ergibt sich, daß es ca. 200 000 sind. Bei *Aethalium septicum* fanden Reinke und Rodewald<sup>38)</sup> 28,4 Proz. des frischen Gewichtes an lufttrockner Substanz, die beim weiteren Trocknen bei 110° noch 4,71 Proz. verlor, so daß der wirkliche Trockensubstanzgehalt 23,7 Proz. betragen würde.

Von den großen Gruppen der Körperstoffe, Fetten, Kohlehydraten, Eiweißstoffen, wissen wir von ersteren kaum etwas. In mikroskopisch nachweisbarer Form kommt Fett bei Protisten vielfach vor, z. B. in den Öltropfen der Radiolarien und ähnlichen Gebilden, die im Plasma der Coccolithophoriden<sup>39)</sup> beschrieben sind, ebenso scheint es, daß Lecithine vorhanden sind, jedenfalls spricht hierfür die Beobachtung von Kölsch,<sup>40)</sup> daß beim Zerfließen mancher Ciliaten Infusorien (*Opalina* u. a.) Myelinformen auftreten, die ja typisch entstehen, wenn Lecithin mit Wasser aufquillt. Reinke und Rodewald<sup>41)</sup> fanden einen Gehalt von 5,36 bis 8,15 Proz. Ätherextrakt in der lufttrocknen Substanz von *Aethalium*, in dem Paracholesterin, Butter-säure, Propionsäure, Kapronsäure sowie Kalziumstearat enthalten waren. Die Fettsäuren sind größtenteils frei, nur ein kleiner Teil kann als Glyceride gebunden sein.

100 Teile lufttrocknen Plasmas enthalten:

Wasser	4,80
Kalziumkarbonat	27,70
weitere Asche	3,73
Gesamtasche	<u>31,43.</u>

Auf aschefreie, bei 110° getrocknete Substanz umgerechnet, beträgt der Gehalt der wichtigsten Verbindungen wie folgt:

Vitellin	7,8
Plastin	43,0
Purinbasen	0,015
Asparagin	1,57
Peptone	6,3
Lecithin	0,32
Glycogen	7,42
Äthaliuzucker	4,7
höhere Fettsäuren als Kalziumsalze	8,4
Fettsäuren im Ätherextrakt	6,3.

Bei anderen Protisten hat die Gewinnung genügenden Materials meist sehr bedeutende Schwierigkeiten, selbst von Paramaecium sind bisher noch nicht solche Massen gezüchtet worden, daß eine eingehende chemische Charakteristik der Zellbestandteile möglich gewesen wäre. Sosnowski<sup>42)</sup> hat eine Reihe von Reaktionen mit Paramaecienkörpern ausgeführt, z. B. mit positivem Erfolge die Biuret und die Millonsche Reaktion. Im übrigen läßt sich nach seinen Angaben nur sagen, daß Phaltige Eiweißkörper (oder Eiweißverbindungen) in Paramaecium vorkommen, daß Stoffe mit heißem Alkohol extrahiert werden können (Lecithine, Lipoid e etc.) und daß genuine Eiweißkörper nicht nachweisbar sind. Die chemische Untersuchung bietet nichts besonderes, die technische Schwierigkeit liegt lediglich in der Beschaffung genügender Materialmengen.

Was den Bestand an Kohlehydraten anlangt, so liegt wenigstens über ein Objekt eine eingehendere Untersuchung vor, im allgemeinen sind wir auch hier über die erste grobe Orientierung durch die Färbungen noch nicht herausgekommen.

Während bei Algen die Blaufärbung mit Jod bei einer Reihe von Inhaltskörpern gelingt, die sich dadurch als stärkeartig zu erkennen geben, finden sich bei den Protozoën, soweit überhaupt mit Jod färbbare Polysaccharide vorhanden sind, nur glykogenartige Stoffe, die mahagonibraune Färbung annehmen. Bei Gregarinen fand Bütschli derartige Reservestoffe in Menge.

Bei Ciliaten kann die Braunfärbung durch Jod ganz fehlen und zu anderen Zeiten in derselben Spezies sehr stark sein (z. B. Paramaecium).

Pelomyxa enthält in ihrem Plasma zahlreiche stark lichtbrechende Gebilde, sog. „Glanzkörper“, die sich durch Stolc'<sup>43)</sup> Untersuchungen als Glykogen erwiesen haben, deren Hüllen aber aus einem noch nicht näher definierten schwer löslichen Kohlehydrat bestehen. Wichtiger als der Nachweis der Kohlehydrate, die dieselben färberischen Eigenschaften zeigen, wie die uns genau bekannten, ist die Auffindung von Polysacchariden, die sich ganz anders verhalten.

Gottlieb fand bei Euglena (Flagellat) einen von ihm als Paramylum bezeichneten Stoff, der in sehr bedeutender Menge gespeichert, ca. 50 Proz. der gesamten Trockensubstanz dieses Wesens bildet. Nach den übereinstimmenden Angaben von Gottlieb und Bütschli<sup>44)</sup> hat dieser Körper folgende Eigenschaften: Jod färbt ihn nicht, auch nach Zusatz von 50 oder 70 Proz. Schwefelsäure zeigt sich keine oder nur eine ganz leichte gelbliche

Färbung. In Wasser ist das Paramylum selbst bei 150° höchstens in Spuren löslich. Speichel übt keine Wirkung. Weder in Wasser noch in 37proz. Salzsäure erfolgt Quellung. Nach Kochen mit 7—8 Proz. Salzsäure werden die Körnchen leichter quellbar und lösen sich in 70proz. Schwefelsäure. In stark schwefelsaurer Lösung 16 Stunden lang gekocht, liefert das Paramylum einen reduzierenden Körper. Es läßt sich ein Osazon vom Schmelzpunkt 204—205° herstellen, wonach also der Zucker des Paramylum d-Glukose ist. In 6proz. Kalilauge quellen die Körper auf und lösen sich dann, in Formalin erfolgt rasche Quellung und Lösung (in 1—2 Stunden).

Die Hauptschwierigkeit, die sich einer Erweiterung unserer Kenntnisse über die Chemie der Protisten entgegenstellt, ist die meist zu geringe Materialmenge, die zur Verfügung steht. Hier eröffnet sich der mikrochemischen Analyse ein weites Feld.

So erbrachte W. Schewiakoff<sup>45)</sup> (1894) den Nachweis, daß die sog. „Exkretkörner“ der Infusorien, die z. B. bei Paramaecium oft in bedeutender Menge das Endoplasma erfüllen, aus phosphorsaurem Kalk bestehen, und nicht etwa organische Stoffe enthalten, die von Bedeutung im Stoffwechsel sein könnten.

Ebenso konnte Schaudinn<sup>46)</sup> (1899) in den Exkretkörnern von Trichosphaerium Kalzium und Phosphorsäure nachweisen. In beiden Fällen war die Beziehung zur Art der Ernährung deutlich, indem pflanzliche Nahrung das Auftreten wenig begünstigte, während bei tierischer Nahrung die Körnchen (Konglomerate stark lichtbrechende Kristalle) in Menge zu finden waren.

Auf mikrochemischem Wege gelang Schaudinn auch der Nachweis, daß die Skeletteile von Trichosphaerium aus Magnesiumkarbonat, nicht wie Foraminiferenschalen gewöhnlich (z. B. bei *Calcituba polymorpha*) aus Kalziumkarbonat bestehen.

Awerinzew<sup>47)</sup> wies in den Schalen der Süßwasserrhizopoden (*Quadrula*, *Lecquereusia*, *Englypha* und *Cyphoderia*), Kieselsäure ( $\text{SiO}_2$ ) und Eisen nach, erstere in Form der Kristalle von  $\text{Na}_2\text{SiF}_6$ , das Eisen durch die Berlinerblaureaktion.

Die Ausführung der angeführten mikrochemischen Reaktionen lehnt sich eng an die vorhandenen Anweisungen an, wie sie besonders in trefflicher Zusammenfassung O. Richter<sup>48)</sup> neuerdings gegeben hat, auf dessen Darstellung und ausführliche Bibliographie hier verwiesen werden muß.

## 2. Ernährung und Verdauung.

Die Entscheidung der Frage, in welcher Form die Protisten ihre Nahrung aufnehmen, ist mit großen methodischen Schwierigkeiten verbunden.

Einer großen Anzahl von ihnen fehlt die Fähigkeit, geformte Nahrung aufzunehmen, so daß als Stoffquellen nur gelöste Stoffe in Betracht kommen.

Am einfachsten scheint ja der Fall bei den chlorophyllhaltigen Formen zu liegen, bei dem Heer der Protophyten und der Mehrzahl der Flagellaten, denn bei ihnen würde nach den geläufigen Vorstellungen die Kohlensäure als alleinige Kohlenstoffquelle dienen, aus der auf photosynthetischem Wege Kohlehydrate aufgebaut würden. Für die übrigen notwendigen Stoffe ist in gelösten Salzen gewöhnlich kein Mangel.

Die Ernährungsphysiologie der Algen hat aber neuerdings gezeigt, daß

diese Organismen auch ohne Ausnutzung des Lichtes leben können, wenn ihnen geeignete organische Verbindungen zur Verfügung stehen.

So fand Treboux<sup>49)</sup> für eine größere Anzahl von Algenarten, daß Essigsäure bei völligem Lichtabschluß als Kohlenstoffquelle verwertet wird, bei einer Spezies (*Chlamydomonas*) sogar besser als Zucker. Das Optimum der Konzentration liegt etwa bei 0,25 Proz. Michsäure nutzten 2 Algenarten aus, *Scenedesmus acutus* und *Coelastrum microporum*, mit Buttersäure vermochte *Euglena viridis* zu leben. Die Nährlösung enthielt  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4 = 0,033$  Proz.,  $\text{K}_2\text{HPO}_4 = 0,01$  Proz.,  $\text{MgSO}_4 + 7\text{H}_2\text{O} = 0,0025$  Proz.,  $\text{K}_2\text{SO}_4 = 0,0025$  Proz.,  $\text{FeSO}_4 + 7\text{H}_2\text{O} = 0,0005$  Proz., die Reaktion wurde neutral bis schwach alkalisch erhalten.

Die umfassende Untersuchung von Zumstein<sup>50)</sup> zeigte, daß Euglenen sich völlig heterotroph ernähren können und daß kein Unterschied zwischen chlorophyllosen Euglenen und Astasiiden besteht, beide Formenreihen gehen kontinuierlich ineinander über. *Euglena gracilis* nutzt Zitronensäure (1 bis 2 Proz.), weniger gut Weinsäure (0,5–1 Proz.) und nur schlecht 0,2 Proz. Oxalsäure aus. Bemerkenswert ist, daß *Euglena viridis* zwar Buttersäure aber keine Zitronensäure ausnutzen kann.

Wo also in der Natur gelöste komplexe Kohlenstoffverbindungen vorkommen, da wird man stets zu erwägen haben, ob sie neben der  $\text{CO}_2$  eine ernährungsphysiologische Bedeutung haben. Zweifellos wird eine derartige Bedeutung bei chlorophyllfreien Formen, wie sie sich ja unter den Flagellaten und Diatomeen finden.

Auch eine Reihe von Protozoen ernährt sich ganz offenbar von Stoffen, die in gelöster Form aufgenommen werden. Unzweifelhaft ist dies für die große Klasse der parasitischen Sporozoen (Coccidien und Gregarinen) sowie für die, ihrer systematischen Stellung nach so dunkle *Opalina ranarum*.

Auch bei den Radiolarien findet unter normalen Bedingungen keine Aufnahme geformter Nahrung statt, und die symbiotischen Algen, die vielfach mit ihnen vereinigt sind, dürften kaum zur Deckung des großen Stoffbedarfs ausreichen, der aus dem Sauerstoffverbrauch geschlossen werden kann (Pütter).<sup>51)</sup>

Ob bei den Protozoen, die geformte Nahrung aufnehmen, die Menge zur Deckung des Stoffbedarfs ausreicht, wäre erst auf Grund der quantitativen Bestimmung des letzteren zu entscheiden, der sich meist erhebliche technische Schwierigkeiten entgegenstellen (s. u.).

In welchem Umfange Protisten Bakterien fressen können, geht aus Huntémüllers<sup>52)</sup> Untersuchungen hervor, der *Bodo ovatus* und *Bodo saltans* mit Typhusbazillen fütterte und nicht nur qualitativ beobachtete, daß viele Bakterien von den Flagellaten in kurzer Zeit aufgenommen werden, sondern durch Zählung der Keime zeigte, daß in 1–2 Tagen die größte Menge der Bazillen verschwunden war, indem dabei der Keimgehalt z. B. im Verhältnis von 200 000 bis 7- oder 8000 abgenommen hatte. Der Modus der Nahrungsaufnahme, z. B. einer Amöbe, ist ohne besondere technische Hilfsmittel zu studieren, und verläuft in der Weise, wie es Fig. 7 zeigt.

Zur Orientierung über den Ernährungszustand eines Protists dient am besten die Jodfärbung, die einen Teil der gespeicherten Kohlehydrate mahagonibraun (Glykogen) oder blau (Stärke) hervortreten läßt, während das

eiweißhaltige Plasma einen gelben Farbenton von verschiedener Intensität annimmt. Will man sich nur ganz generell über die Verteilung dieser Stoffe unterrichten, so genügt es, dem Tropfen Kulturflüssigkeit, in dem man die

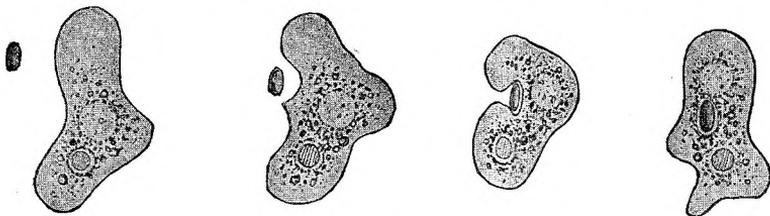


Fig. 7. Aufnahme einer Algenzelle durch eine Amöbe.  
(Aus Verworn, Allgemeine Physiologie.)

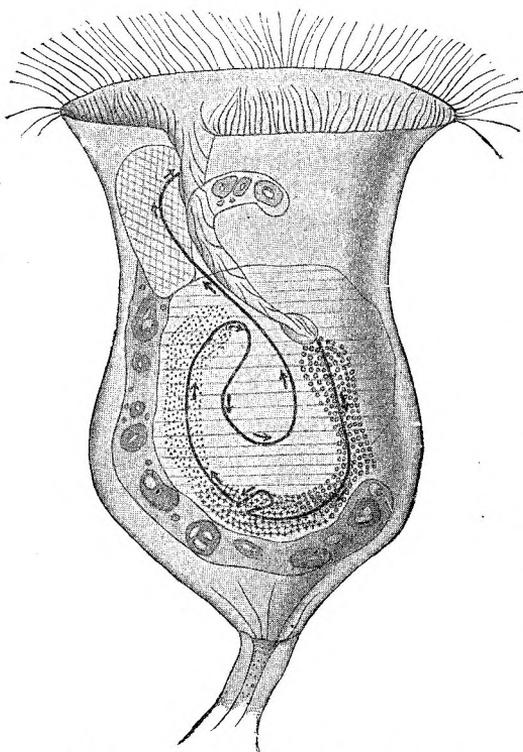


Fig. 8. Weg der Ingesta bei Carchesium.  
(Nach Greenwood aus Verworn, Allgemeine Physiologie.)

Objekte beobachtet, etwas Jodtinktur zuzusetzen. Zur Vergleichung des relativen Gehaltes an Reservematerial verfährt man zweckmäßig folgendermaßen: In ein Uhrschälchen mit absolutem Alkohol läßt man in möglichst kleinen Tropfen die Protozoen hereintropfen, saugt sie mit einer feinen Pipette auf und läßt den Alkohol auf dem Objektträger verdunsten, wodurch die Objekte festgeklebt werden. Ein Tropfen Jodtinktur, für eine halbe Minute aufgebracht, färbt alles mit Jod färbbare und wird mit einem Stückchen Filtrierpapier abgedrückt. Die gefärbten Objekte müssen dann sofort untersucht werden in Wasser, Glycerin oder Kanadabalsam, sie bleichen rasch aus. Auf diese Art kann man sich einigermaßen über den Ernährungszustand der Tiere orientieren.

aus dem über Kohlehydrate, die sich nicht mit Jod färben, oben gesagter deutlich hervor.

Reicht für das Studium des Weges, den die Ingesta im Endoplasma nehmen, wie für das Erkennen der gröberen Veränderungen, die sie erleiden, die einfache mikroskopische Betrachtung aus (s. Fig. 8), so hat man doch versucht durch vitale Färbungen Aufschluß über die Reaktion während der

Welche Mängel eine derartige Untersuchung hat, geht

Verarbeitung, eventuell über ihre Veränderung in bestimmten Zellteilen etwas zu erfahren.

Die früher vielfach widersprechenden Angaben haben sich wesentlich durch Berücksichtigung zweier Momente geklärt: der Prozeß der Nahrungsvorverarbeitung zerfällt (speziell bei den Ciliaten) in zwei Phasen, in denen sich die Nahrungsvakuolen verschieden verhalten und die Indikatoren, die zur Feststellung der Reaktion verwendet werden, geben je nach ihrer Empfindlichkeit verschiedene Resultate.

Nach Nirenstein<sup>53)</sup> sind die beiden folgenden Perioden in den Veränderungen der Nahrungsvakuolen zu unterscheiden:

Periode 1. Die Nahrungsvakuole löst sich vom Schlund ab, wird durch Wasserverlust verkleinert, der Inhalt ballt sich und es dringen Endoplasmakörnchen in die Vakuole ein.

Periode 2. Die Vakuole vergrößert sich wieder durch Wasseraufnahme, der Nahrungsballen (Bakterienballen) zerfällt und die Granula werden aufgelöst.

Während der ersten Phase reagiert die Vakuole sauer, während der zweiten, der eigentlichen Verdauungsphase dagegen alkalisch.

Für die Feststellung der Reaktion ist folgendes zu beachten:

Neutralrot färbt sich fuchsinrot bei Gegenwart verdünnter Mineralsäuren, organischer Säuren, Kohlensäure, saurer Salze und Nucleinsäure. Bei genau neutraler Reaktion ist es ziegelrot, bei alkalischer gelb.

Kongorot, bei neutraler Reaktion scharlachrot. Farbenumschlag in blau erfolgt in Gegenwart verdünnter Mineralsäuren, während organische Säuren die Farbenänderung erst in so hohen Konzentrationen bewirken, wie sie für die vorliegenden Zwecke nicht vorkommen. An Eiweis gebundene Säure bewirkt keine Blaufärbung.

Dimethylamidoazobenzol, bei neutraler und alkalischer Reaktion gelb, Mineralsäuren geben schon in großer Verdünnung einen Farbenumschlag in fuchsinrot. Dieser Farbstoff bewirkt wie Neutralrot eine Vitalfärbung des Plasmas.

Methylorange, durch Alkali gelb, durch verdünnte Mineralsäuren rot gefärbt, ebenso Tropäolin OO.

Die Reaktionsgrenze liegt für Tropäolin bei einer Konzentration von 0,048 Proz. Schwefelsäure, für Dimethylamidoazobenzol bei 0,03 Proz., da nun bei *Paramaecium* die saure Reaktion des Vakuoleninhaltes, die durch freie Mineralsäuren bedingt ist, gerade an der Grenze der Nachweisbarkeit durch Tropäolin liegt, so darf man in ihr eine Konzentration von ca. 0,018 Proz. HCl annehmen.

Ist durch die mikroskopische Beobachtung der Veränderungen, die aufgenommene Nahrungspartikel im Innern des Protozoenkörpers erfahren, der Nachweis verdauender Stoffe erbracht, so blieb doch die Darstellung von Fermenten, die von der Zelle getrennt ihre Wirksamkeit entfalten, wünschenswert.

H. Mouton<sup>54)</sup> (1902) stellte ein proteolytisches Ferment aus Amöben dar, die er mit *Bacterium coli* zusammen gezüchtet hatte (s. o.). Durch Zentrifugieren werden die Amöben ziemlich vollständig von den Bakterien getrennt und darauf mit Glycerin extrahiert. 10 ccm des Extraktes werden

mit 50 ccm Alkohol gefällt, abzentrifugiert, der Alkohol dekantiert und der Niederschlag schnell in Wasser gelöst, da längeres Verweilen in Alkohol das Ferment zerstört. Die gewonnene Fermentlösung ist imstande Gelatine zu lösen (was im Kontrollversuch mit *Bacterium coli* nicht erfolgt) und wirkt am besten bei einer Reaktion, die gegen Phenolphthalein sauer, gegen Methylorange alkalisch ist. Temperaturen von 59° schwächen das Ferment erheblich, bei 60° wird es zerstört. Peptone konnten bei der Gelatineverdauung nicht nachgewiesen werden. Fibrin wird unter Bildung von Tyrosin zerlegt, wobei Tryptophanbildung festgestellt werden konnte.

Auch aus Paramaecien vermochten Mesnil und Mouton Fermente zu isolieren. Die Paramaecien wurden durch Galvanotaxis rein gewonnen, mit Chloroform extrahiert (Konservierung in Glycerin). Die Wirkung des Ferments entfaltet sich am besten bei (gegen Lakmus) neutraler Reaktion, auch bei schwach saurer oder schwach alkalischer ist sie noch zu beobachten. Einwirkung von 56° durch eine Stunde setzt die Wirkung herab, 64° durch eine Stunde setzt sie auf 1/10 herab. Gelatine wird gelöst und bei 35° auch langsam Fibrin, das vorher auf 58° erhitzt war.

Diese Angaben sind spärlich genug und reichen zu einem Vergleich der beobachteten Fermentwirkungen mit Fermenten anderer Herkunft in keiner Weise aus, sie zeigen wesentlich, daß keine unüberwindlichen technischen Schwierigkeiten sich dem Studium der Fermente bei Protisten entgegenstellen.

### 3. Stoffwechsel.

Die quantitativen Verhältnisse des Stoffwechsels der Protozoen stellen noch eine fast völlige terra incognita dar, nur über die Kohlensäureabgabe und den Sauerstoffverbrauch liegen einige wenige Angaben vor.

Vernon<sup>56)</sup> benutzte das Radiolar Collozoum *inermis*, das sich seiner Größe und Häufigkeit wegen gut eignet, zu Versuchen über den Sauerstoffverbrauch. Aus seinen Zahlen ergibt sich ein sehr hoher Sauerstoffverbrauch: es wurden von 223 g aschefreier Trockensubstanz in einer Stunde 6,205 g Sauerstoff verbraucht, das bedeutet auf den üblichen Vergleichswert kg organische Trockensubstanz und Stunde umgerechnet 27 800 mg. Die Einzelindividuen haben etwa 100 mg Gewicht und 0,4 Proz. aschefreie Trockensubstanz, die Oberfläche der annähernd kugelförmigen Kolonie umfaßt ca. 100 mm<sup>2</sup>, so daß der Sauerstoffverbrauch pro m<sup>2</sup> Stunde 1110 mg beträgt.

Vernons Methodik war für Collozoum dieselbe, wie für das Studium des Gaswechsels anderer Wirbelloser.

Eine Untersuchung über die Menge der Kohlensäure, die Paramaecien produzieren, verdanken wir Barratt.<sup>57)</sup>

In einen gläsernen Rezipienten von ca. 250 ccm Inhalt werden etwa 50 ccm paramaecienhaltige Flüssigkeit gebracht. Der Rezipient ist durch Schiffe geschlossen. Nach ca. 24 Stunden wird durch einen kohlenensäure freien Luftstrom die gebildete CO<sub>2</sub> ausgespült, über Schwefelsäure getrocknet und in einem Absorptionsapparat aufgefangen, der in einem Schenkel Natronkalk, im zweiten Schwefelsäure (in Bimstein) enthält (s. Fig. 9). Bei sorgfältiger Ausführung ist der Versuchsfehler sehr gering.

Die Abtrennung der Paramaecien von anhaftenden Bakterien ist hier natürlich von der größten Bedeutung für das Resultat. Die Reinigung er-

folgte durch Zentrifugieren und die in destilliertem Wasser befindlichen Paramaecien blieben meist vor dem Versuchsbeginn 24 Stunden lang stehen.

Es zeigt sich für die Größe der Kohlensäureproduktion ein deutlicher Einfluß der Temperatur, indem bei 27–30° etwas mehr als doppelt so viel gebildet wurde, als bei 15°; hungernde Tiere gaben weniger CO<sub>2</sub> ab, als frisch aus der Kultur entnommene.

Die Zahl der Tiere, die im einzelnen Versuch zur Verwendung kamen, schwankte zwischen 43 000 und 355 000, das Volumen zwischen 27,5 und 116 cmm. (Methoden der Zählung und Volumbestimmung s. o.)

Als Beispiel seien die Zahlen eines Versuches angeführt: bei 19–21° C. produzierten 200 000 Tiere (51,8 cmm) in 24 Stunden 1,2 mg CO<sub>2</sub>, d. h. 1,9 Proz. ihres Lebendgewichtes. Da der Wassergehalt der Paramaecien unbekannt ist, so ist eine Umrechnung auf einen Vergleichswert z. B. auf 1 kg organische Trockensubstanz und Stunde, ziemlich willkürlich. Würde man den Gehalt an organischer Trockensubstanz zu 0,4 Proz. ansetzen, wie er für Collozoum bestimmt war, so hätten wir eine CO<sub>2</sub> Abgabe von 400 000 mg pro kg organische Trockensubstanz und Stunde. Es würden also pro kg organische Trockensubstanz in der Stunde mehr als 100 g Kohlenstoff in Form von CO<sub>2</sub> ausgeschieden, was einen Stoffumsatz von ganz gewaltiger Intensität bedeutet, der allerdings wieder wesentlich geringer erscheint, wenn man ihn auf die gewaltige Oberfläche der kleinen Versuchstiere bezieht.

Den qualitativen Nachweis, daß Paramaecien einen Stoff ausscheiden, der Rosolsäure entfärbt, also sowohl CO<sub>2</sub>, wie eine andere organische Säure sein könnte, hat Jennings<sup>58)</sup> erbracht, der diese Entfärbung beobachtete, wenn die Paramaecien sich zu dichten Gruppen zusammendrängten. Einige Beobachtungen dieses Autors über die Grenzen derartiger Gruppen, die als chemotaktische Ansammlungen zu betrachten sind, scheinen darauf hinzuweisen, daß in der Tat auch andere Stoffwechselprodukte als CO<sub>2</sub> von den Tieren abgeschieden werden, und die Ansammlung bewirken.

Außer der Kohlensäure ist noch kein Endprodukt des Stoffwechsels quantitativ bestimmt und auch qualitativ liegen nur vereinzelte Angaben vor. So fand Rhumbler<sup>59)</sup> bei *Stylonychia* Harnsäure als Endprodukt. Schaudium<sup>60)</sup> wies gleichfalls durch die Murexidprobe bei *Trichospharium* Harnsäure nach.

Lassen sich auch chemisch die Endprodukte des Stoffwechsels kaum charakterisieren, so gelingt doch der biologische Nachweis, daß sich der-

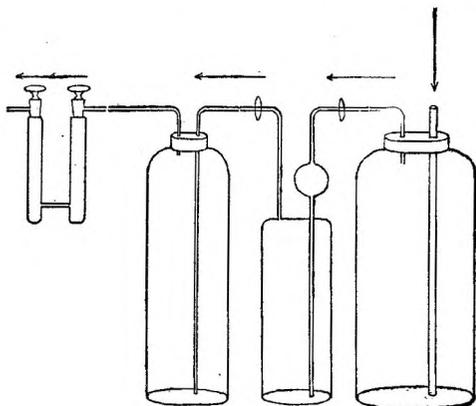


Fig. 9. Apparat zur quantitativen Bestimmung der Kohlensäureproduktion von Paramaecium.  
(Nach W. Barratt.)

artige, schädlich wirkende Stoffe bilden und in das umgebende Medium ausgeschieden werden.

Bringt man Paramaecien in möglichst großer Zahl in einen möglichst kleinen hängenden Tropfen und läßt diesen in der feuchten Kammer in Luft stehen, so entwickelt sich im Laufe einiger Stunden bis zu einem halben Tage ein Bild, das deutlich zeigt, daß hier eine schwere Vergiftung der Tiere stattfindet. Sauerstoffmangel ist nicht der Grund, denn durch frische Luft kann der Prozeß nicht beeinflusst werden, auch Anhäufung von CO<sub>2</sub> ist als Ursache auszuschließen, da die Paramaecien selbst gegen hohen CO<sub>2</sub> Gehalt der Luft sehr resistent sind. Es muß sich also um die Wirkung gelöster Stoffe handeln, die aus dem Stoffwechsel der Tiere stammen. Dies erkennt man auch daran, daß Übertragung in frisches Wasser rasche Erholung bewirkt, wenn die Schädigung noch nicht zu weit gegangen ist und daß andererseits frische Tiere, die mit möglichst wenig Wasser in den Tropfen eingebracht werden, der die Stoffwechselprodukte enthält, rasch das Bild der Vergiftung zeigen.

Einen kleinen Einblick in die Art des Stoffwechselgetriebes gewähren noch die Untersuchungen über das Leben nach Sauerstoffentziehung.

Den Erfolg, den man erhält, wenn man diese bedeutenden Eingriffe in das Stoffwechselgetriebe der Protisten vornimmt, ist äußerst verschied-

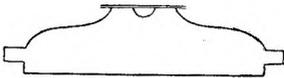


Fig. 10. Einfache Gaskammer zur Beobachtung im hängenden Tropfen.

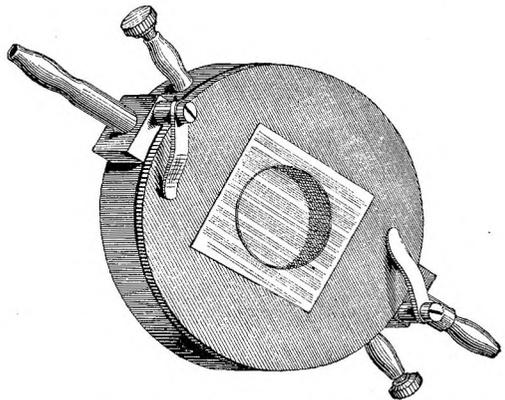


Fig. 11. Gaskammer nach Engelmann. (Aus Verworn, Allgemeine Physiologie.)

den, je nach den Bedingungen, unter denen er erfolgt.

Die einfachste Methode ist die, daß man durch eine Gaskammer (Fig. 10 u. 11) in der im hängenden Tropfen die Versuchstiere enthalten sind, einen Strom reinen Stickstoff durchleitet, (Anordnung s. Fig. 12).

Für die Herstellung eines physiologisch indifferenten und völlig sauerstofffreien Stickstoffs dient am besten als Ausgangsmaterial der Luftstickstoff, der in Stahlflaschen in den Handel kommt. Dieser enthält etwa 2 Proz. Sauerstoff, zu deren Entfernung man folgendermaßen verfährt. Auf einen Gasometer von ca. 25 Litern kommt ein Liter 30proz. Seignettesalzlösung, 200 ccm Ferrosulfat (40 Proz. Lösung) und 200 ccm Kalilauge (60 Proz. Lösung). Mit diesem Gemisch wird das Gas mehrfach im Laufe einiger Stunden gut durchgeschüttelt. Vor dem Gebrauch leitet man das Gas durch eine bis zwei Waschflaschen mit der Ferrolösung.<sup>61)</sup> Leitet man derartig hergestellten Stickstoff durch die Gaskammer, so treten an den Protisten (Ciliaten wurden bisher nur untersucht) im hängenden Tropfen

bald die Erscheinungen schwerer Schädigung auf. Am raschesten bei *Spirostomum*, wo schon 3 bis 4 Minuten nach dem Beginn der Gasdurchströmung der Tod der Tiere unter stürmischem Zerfließen erfolgt. Bei *Paramecium* dauert es meist viel länger, oft stundenlang, bis die Tiere absterben.

Erneuerte Zufuhr von Luftsauerstoff bewirkt rasch Erholung, die besonders bei *Spirostomum* mit frappanter Plötzlichkeit einsetzt.

In anderer, sehr einfacher Weise demonstriert Prowazek<sup>62</sup>) die Vorgänge der Erstickung, indem er die Tiere (*Paramecium*, *Colpidium*, *Chilodon*) in ausgekochtes Wasser bringt, vital mit Neutralrot färbt und ein Deckglaspräparat herstellt, das sorgfältig mit Kanadabalsam abgeschlossen wird. Auch hier sterben die Paramecien relativ rasch, spätestens nach etwa 2 Stunden ab, die Colpidien halten bis zu 12 Stunden aus.

Ganz anders ist der Erfolg, wenn man den Tieren in größerem Flüssigkeitsvolumen den Sauerstoff entzieht. Hierbei ist auf die völlige Entfernung der letzten Sauerstoffspuren der größte Wert zu legen, da eine prozentual

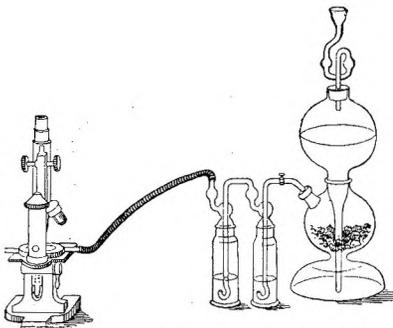


Fig. 12. Versuch mit der Gaskammer.  
(Nach Verworn, Allgemeine Physiologie.)

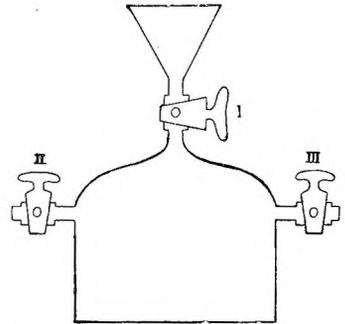


Fig. 13. Rezipient zum Studium der Wirkung der Sauerstoffziehung bei Protisten.

sehr geringe Menge Sauerstoff bei der großen Flüssigkeitsmenge doch ein Reservoir darstellen kann, das auf längere Zeit die Protisten vor wirklichem Sauerstoffmangel schützt.

Die Technik ist folgende: In einen Rezipienten von der Form Fig. 13 kommen ca. 50 ccm gut ausgekochtes, destilliertes Wasser (oder bei *Opalina*, *Nyctotherus* p.p. der oben angegebenen Salzlösung), die noch heiß eingefüllt werden. Bei geschlossenem Hahn I wird durch das Gefäß ein lebhafter Strom reinen Stickstoffs geleitet, dann die Hähne II und III geschlossen und gewartet bis der Rezipient Zimmertemperatur angenommen hat, wobei in seinem Innern ein negativer Druck entsteht. Die Versuchstiere werden durch Zentrifugieren in einem ganz geringen Flüssigkeitsvolumen (ca. 1 ccm) vereinigt, und in den Trichter oberhalb Hahn I gebracht. Durch schnelles einmaliges Öffnen des Hahns wird die Flüssigkeit eingesaugt, was ganz ohne Eintritt von Luft geschehen kann, und alsdann abermals ein lebhafter Stickstoffstrom durch das Gefäß geschickt. Als Kontrolle dafür, daß auf diese Weise aller Sauerstoff entfernt wurde, kann man zwei Parallelversuche mit sehr verschiedener Anzahl der Versuchsobjekte machen, wobei

sich ergibt, ob beide einen gleichen zeitlichen Verlauf des anaëroben Lebens zeigen, was nicht der Fall sein könnte, wenn eine etwa zurückgebliebene geringe Menge Sauerstoff verwertet würde.

Die Dauer des Lebens ohne Sauerstoff ist in erster Linie von dem Ernährungszustande der Versuchstiere abhängig, indem Hungertiere nur sehr kurze Zeit ohne Sauerstoff aushalten, gutgenährte Tiere dagegen sehr viel länger, z. B. Parameecien bis zu 10 Tagen, Colpidien bis zu 12 Tagen. Noch viel länger kann man ein Infusor anaërob am Leben erhalten, wenn es gelingt, ihm während dieser Periode Nahrung zuzuführen. Bei Parameecium und Colpidium ist dies bisher nicht geglückt, wohl aber bei den Infusorien aus dem Enddarm des Frosches, *Opalina*, *Balantidium* und *Nyctotherus*, die in reiner Salzlösung (Zusammensetzung s. o.) nur wenige Tage anaërob aushalten, bei Zusatz von Eiweiß aber, das anaërob fault, längere Zeit ohne Sauerstoff leben können, z. B. *Opalina* 21 Tage, *Nyctotherus* 39 Tage.

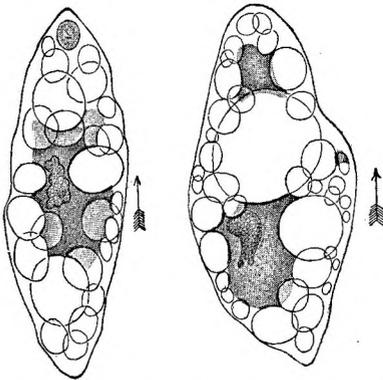


Fig. 14. Parameecien in vorgerückterem Hungerzustande, stark vakuolisiert. (Nach Wallengren.)

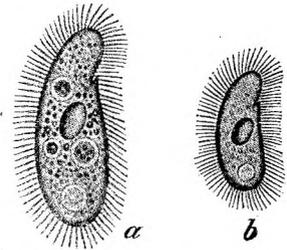


Fig. 15. *Colpidium colpoda*. a. normal; b. im Hunger stark verkleinert. (Nach Jensen aus Verworn, Allgemeine Physiologie.)

Für das Studium der Veränderungen, die die Zelle bei Nahrungsentziehung erleidet, bieten die Protisten ein höchst geeignetes Material. Führt man in der oben beschriebenen Weise Infusorien z. B. *Parameecium* oder *Colpidium* in reines Wasser (Leitungswasser oder destilliertes Wasser) über, so erhält man Hungerkulturen, in denen Wallengren<sup>63</sup> im Laufe von etwa 2 Wochen sich die Erscheinungen des Hungers bis zum Hungertode hin entwickeln sah. Die Untersuchung geschah an konserviertem Material. Von den vielen interessanten Veränderungen sei hier nur die starke Vakuolisierung des Endoplasmas erwähnt, die mit starker Deformierung der Tiere einhergeht. Solche Formen, wie Fig. 14 sie zeigt, trifft man auch in der Natur gelegentlich, was für die Beurteilung des physiologischen Zustandes eines Objekts wissenswert ist. Eine gleichfalls eingehende Beschreibung der Veränderungen von *Parameecium* im Hunger hat Kasanzeff<sup>64</sup> gegeben.

Bei *Parameecium* tritt eine Volumabnahme der ganzen Zelle nicht sehr deutlich hervor, obgleich sie nachweisbar ist, dagegen schrumpfen andere Protisten beim Hungern außerordentlich zusammen, z. B. *Colpidium* (s. Fig. 15),

*Actinosphaerium* und vielleicht am extremsten *Dileptus gigas*, das bei guter Ernährung 0,7 mm lang, 0,12 mm breit ist, beim Hunger auf 0,04 mm Länge, 0,02 mm Breite abnimmt.

#### 4. Energieumwandlungen.

Die Beobachtung lehrt, daß bei den Protisten, wie in allen Formen der lebendigen Substanz die mannigfaltigsten Energieumwandlungen vorkommen, aber die Methoden zum näheren Eindringen in diese Prozesse sind außerordentlich spärlich. Produktion von Wärme und Elektrizität ist aus technischen Gründen nicht nachweisbar.

Die Lichtproduktion, wie sie bei *Noctiluka*, *Peridinium* u. a. vorkommt, ist nur in bezug auf ihre Beeinflussbarkeit durch Reize studiert, während der Prozeß des Leuchtens selbst noch nicht Gegenstand der Untersuchung gewesen ist. In sehr mannigfaltiger Weise tritt die Produktion mechanischer Energie in Formen verschiedenartigster Bewegungen hervor.

Wie groß die Energieentwicklung hierbei ist, wissen wir durch Jensens<sup>65)</sup> Bestimmungen. Der Weg zur Bestimmung dieser Größe ist durch die Eigenart von *Paramecium* gegeben, sich entgegen der Richtung einer Massenbeschleunigung (Schwerkraft oder Zentrifugalkraft) zu bewegen. Man kann daher die Größe der Massenbeschleunigung bestimmen, die dem *Paramecium* eben das Gleichgewicht halten kann (s. unten bei *Geotaxis* und *Centrotaxis*).

Die Zentrifugalkraft ( $k$ ), durch die der Kraft des *Parameciums* das Gleichgewicht gehalten werden soll, ist bestimmt durch die Formel:

$$k = \frac{4\pi^2 r \cdot p}{g \cdot T^2},$$

wenn  $r$  die Entfernung des zentrifugierten Körpers vom Rotationsmittelpunkt,  $p$  das Gewicht des Körpers,  $g$  die Beschleunigung der Erdschwere und  $T$  die Umlaufzeit der Zentrifugenscheibe bedeutet.

Aus Volumen und spezifischem Gewicht (s. o.) erhält man das Gewicht des *Paramecium* im luftleeren Raum, das im Wasser einen seinem Volumen entsprechenden Gewichtsverlust (Auftrieb) erleidet.

Bei 0,2 Sek. Umlaufzeit der Zentrifuge herrscht Gleichgewicht in 80 mm Entfernung vom Rotationsmittelpunkt, woraus sich die absolute Kraft des Wimperapparates von *Paramecium* zu 0,00158 mgr berechnet.

Der Wimperapparat besteht aus ca. 3500 einzelnen Cilien, deren Gesamtmasse nur etwa 1/200 der Masse der ganzen Tiere beträgt, so daß den  $4,35 \cdot 10^{-6}$  mg Wimpersubstanz eine Kraft von  $1,6 \cdot 10^{-3}$  mg entspricht, oder: 1 mg Wimpern würde 368 mg zu heben imstande sein.

Da die Schwimmgeschwindigkeit von *Paramecium* bekannt ist (etwa 1 mm pro Sekunde), so kann man bei Kenntnis der absoluten Kraft berechnen, welche Kraft zur Überwindung des Reibungswiderstandes des Wassers erforderlich ist. Jensen fand, daß dieser Anteil etwa 90 Proz. der absoluten Kraft ist.

Zur Bestimmung der Frequenz des Cilienschlages reicht bei vielen Objekten die einfache Zählung nicht aus, d. h. es erfolgen mehr als ca. 8 bis 10 Schläge pro Sekunde. Bei Protisten ist meines Wissens noch nicht der Versuch gemacht zur Frequenzbestimmung die stroboskopische Methode

zu benutzen, die Martius<sup>66)</sup> für Flimmerepithel mit Erfolg verwendete. Er benutzte hierbei ein elektromagnetisches Vibrationsstroboskop, durch das mit variierbarer Frequenz eine Blende zwischen Lichtquelle und Diaphragma geschoben wird.

### 5. Sekretion und Exkretion.

Über extrazelluläre, ungeformte Sekrete ist bei Protisten sehr wenig bekannt, es ist wohl nur eine Gruppe von Stoffen, die häufig und in größerer Menge zur Ausscheidung gelangt: die Schleime.

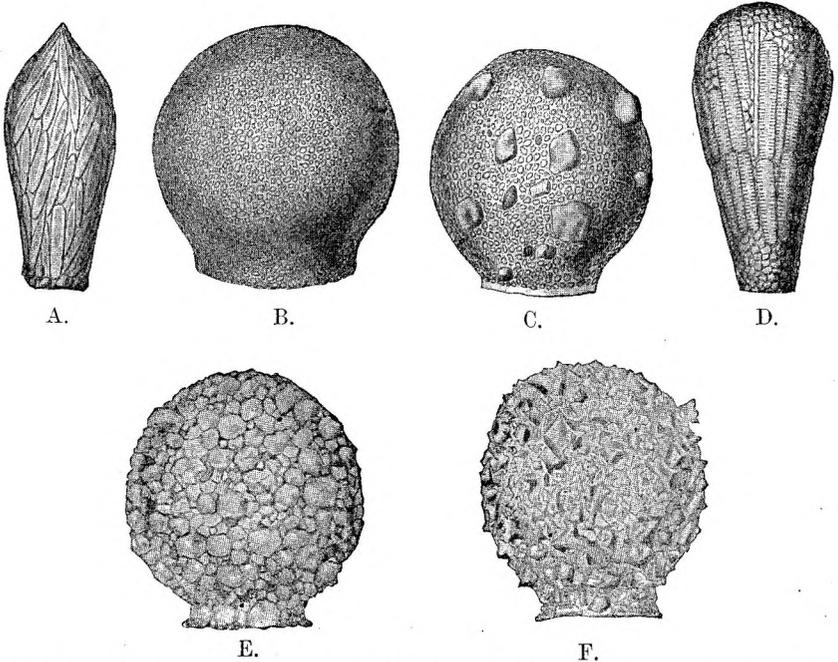


Fig. 16. Verschiedene Diffugiengehäuse. A. Aus Diatomeenschalen; B. aus feinen Sandkörnern; C. aus feinen und groben Sandkörnern; D. aus Diatomeenschalen und Sandkörnern; E. aus groben Sandkörnern; F. aus blauen Glassplitttern. (Nach Verworn, Allgemeine Physiologie.)

Es ist häufig bei einfacher, mikroskopischer Betrachtung nicht möglich zu erkennen, ob ein Protozoon von einer Schleimhülle umgeben ist, oder wie weit diese reicht. In einfacher Weise wird die Schwierigkeit durch Zufügung einer feinen Aufschwemmung von chinesischer Tusche zum Präparat behoben; es erscheinen dann die Schleimhüllen als helle Höfe um die Organismen, die sie ausgeschieden haben, und auch die Schleimstiele, die viele Algen bei ihrer Fortbewegung abscheiden, treten deutlich hervor.

Eine chemische Untersuchung von Protistenschleimen fehlt noch fast völlig, die Unterscheidung verschiedener Schleimarten ist bisher wohl ausschließlich auf tinktoriell Wege möglich. Für die Methoden der Schleimfärbung muß auf die Handbücher der mikroskopischen Technik verwiesen werden.

Ein eigenartiges Sekret stellt der Inhalt der sog. Trichocysten bei *Paramecium* dar. Es sind dies Gebilde, die im Ektoplasma gelegen senkrecht zur Fläche der Pellicula stehen und anscheinend aus einem flüssigen Sekret bestehen. Auf die verschiedensten Reize hin, sobald diese eine genügende Intensität erreicht haben, werden die Trichocysten ausgeschleudert, wobei ihr Inhalt fest wird, anscheinend gerinnt. Daß eine Veränderung mit dem Trichocysteninhalt beim Ausschleudern vor sich geht, zeigt die Beobachtung von Massart<sup>67)</sup>, daß derselbe sich im Tier mit einer Lösung

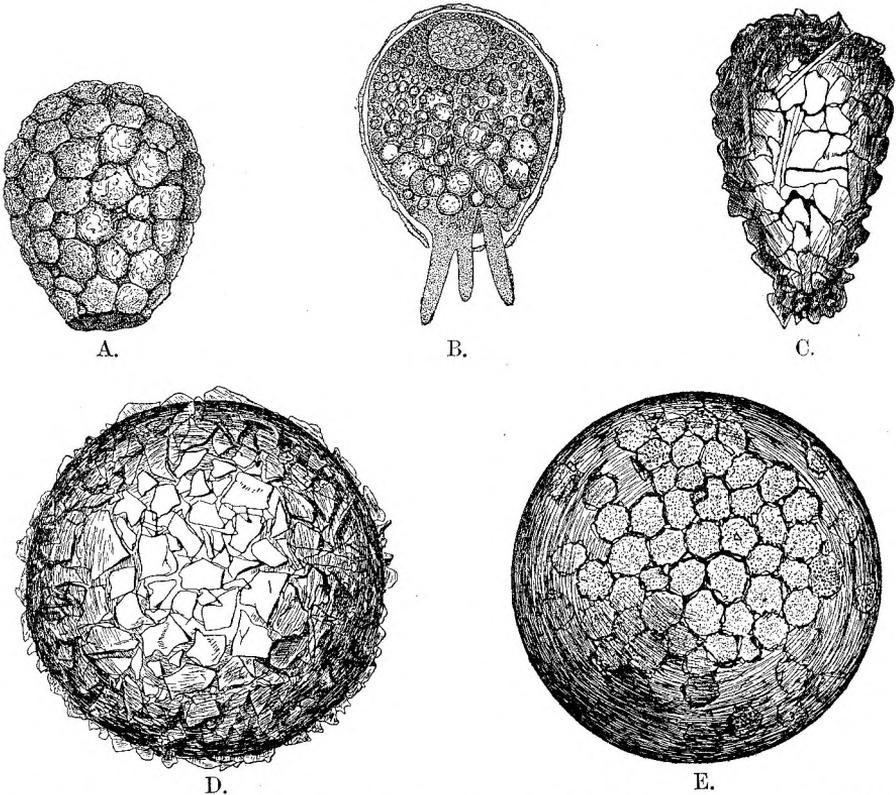


Fig. 17. Gehäuseformen. A. Gehäuse einer *Diffugia* aus selbstproduziertem organischem Schalenmaterial; B. Längsschnitt durch den Protoplasmakörper einer *Diffugia* mit den noch weichen Tröpfchen des organischen Gehäusematerials im Innern; C. Gehäuse eines Öltropfens aus Quarzkörnern bestehend; D. Gehäuse eines Chloroformtropfens aus Glassplintern; E. Gehäuse eines Gemischtropfens von Chloroform, Provenceöl und alkoholischer Schellacklösung, der mit Zinnober und Glassplintern verrieben ist. (Nach Rhumbler aus Verworn, Allgemeine Physiologie.)

von Pikrinsäure und Anilinblau, die das Protoplasma gleichmäßig gelb färbt, nicht im geringsten mitfärbt, sind die Trichocysten dagegen ausgeschleudert, so färben sie sich lebhaft blau.

Von großer biologischer Bedeutung sind endlich die Menge geformter Sekrete, die als Schalen oder Skelette der verschiedensten Formen Verwendung finden. Meist ist eine organische Grundlage anorganischen Skelettmaterials eingelagert.

Experimentell lassen sich beide Komponenten voneinander trennen:

Schaudium zog die Foraminifere *Calcituba polymorpha* Roboz im Aquarium zwei Jahre lang ohne das Wasser zu wechseln und ersetzte das Verdunstete stets durch destilliertes Wasser. Die Foraminiferen entwickelten sich in großer Menge und imprägnierten ihre Skelette reichlich mit Kalziumkarbonat. War der Foraminiferenrasen recht dicht geworden, so wurde er entfernt bis auf wenige Exemplare. Nachdem dies einige Male geschehen war, wurden die Skelette immer kalkärmer und endlich bestanden sie fast rein aus der organischen Grundlage. Dem Wasser war nur das Kalziumkarbonat entzogen, denn *Trichosphaerium sieboldi*, dessen Skelett aus Magnesiumkarbonat besteht, konnte in demselben Wasser seine normalen Skelette aufbauen.

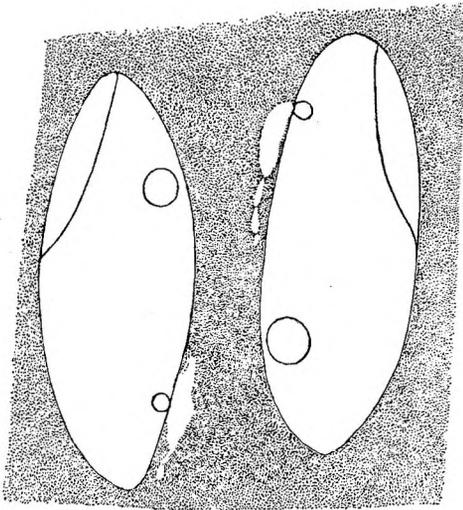


Fig. 18. Demonstration der Systolettenentleerung bei *Paramaecium* mittels der Tuschemethode. (Nach Jennings.)

Zeigt dies Beispiel die Fähigkeit elektiver chemischer Ausnutzung einzelner Salze, so bietet der Schalenbau der Diffflugien ein Paradigma, für Auswahl von Baumaterial nach mechanischen Momenten. Als Baumaterial dienen in der Natur gröbere oder feinere Sandkörner sowie Diatomeenschalen. Oft ist nur ein einziges Material bei einer Schale verwendet, und man hat anthropomorpherweise an eine „Auswahl“ des Baumaterials durch die Tiere gedacht. Der Grund liegt aber darin, daß an dem Wohnort solcher Tiere nur ein Material zur Verfügung stand. Gibt man den Diffflugien nur Glassplitter, so bauen sie aus diesen ihre Gehäuse und zwar ist die Größe der Glassplitter oder Sandkörper, die Ver-

wendung finden, durch ganz äußerliche Momente, nämlich die Enge der Gehäuseöffnung vieler Formen bedingt, die es ihnen unmöglich macht Bausteine oberhalb einer gewissen Größe ins Plasma hineinzuziehen, wie Verworn<sup>68)</sup> nachwies (s. Fig. 16).

Der Vorgang der Gehäusebildung selbst, der auf den ersten Blick als eine bedeutende vitale Leistung der einfachen Diffflugienkörper erscheint, ist uns mechanisch verständlich gemacht durch Rhumblers<sup>69)</sup> vollendete Nachahmung am ganz einfachen Modell: Chloroform oder Öltropfen bauen im Wasser aus Glassplittern, Schellack, Zinoberteilchen usw., die man ihnen beimengt, Gehäuse auf, die Diffflugien schalen täuschend ähnlich sind und deren Entstehung rein physikalisch auf Grund der Gesetze der Adhäsion und Kohäsion notwendig ist (s. Fig. 17).

Ob die pulsierenden Vakuolen oder Systoletten (Haeckel), die so außerordentlich weit verbreitet bei Protisten vorkommen, nur die Bedeutung

von Exkretionsorganen haben, mag fraglich bleiben. Jedenfalls lehrt die direkte Beobachtung, daß durch diese Gebilde ein starker Flüssigkeitsstrom erzeugt wird, der die Tiere durchspült.

Bei *Paramecium* ist die Flüssigkeitsausscheidung so bedeutend, daß bei einigermaßen lebhafter Systolettentätigkeit in etwa dreiviertel Stunden ein Volumen ausgeschieden wird, das dem des ganzen Tierkörpers gleichkommt. Bei *Spirostomum*, dessen Systolette sehr viel langsamer pulsiert, sind hierzu etwa 3 Stunden nötig.

Zur Demonstration der Entleerung des Vakuoleninhaltes in das umgebende Wasser hinein schlägt Jennings<sup>70)</sup> die Verwendung einer feinen Aufschwemmung von chinesischer Tusche vor, in der der entleerte Tropfen sich deutlich abhebt. In dieser Weise konnte er bei *Paramecium*, *Nassula* und *Oxytricha* den Prozeß beobachten (s. Fig. 18).

Weiteres über das Systolettenpiel s. unter „Reizbeantwortungen“.

## 6. Reizphysiologie.

### a) Symptomatologie.

Bei der Verwertung einzelliger Organismen zum Zweck der Lösung physiologischer Fragen macht sich häufig die Neigung geltend, in den Reizbeantwortungen spezifische Wirkungen der angewandten Reizmittel zu erblicken, vielfach, ohne daß der Versuch gemacht wird, erst einmal die spezifischen Fähigkeiten der Zellen zu analysieren.

Es scheint als stammte diese Gepflogenheit noch aus der Zeit, wo man sich die Protozoen, auch selbst die hochausgebildeten Ciliaten, als überaus einfach gebaut vorstellte, und noch keinen genügenden Einblick in die Partiarfunktionen hatte, welche so eine Zelle zu leisten vermag, aus deren Zusammenwirken erst das Bild der freilebenden Zelle resultiert, wie wir es bei den Ciliaten beobachten.

Wenn die Analyse der Symptome, durch die wir Kenntnis von den Partiarfunktionen erhalten, genügend weit geht, so gelangen wir fast überall an einen Punkt, wo ihre Veränderungen nicht mehr als qualitative erscheinen, sondern nur quantitativ nach der Plus- oder Minusseite hin erfolgen. Ist dieser Punkt erreicht, so fällt der Traum der „spezifischen Reizwirkung“ ganz fort, und jeder Reiz, der überhaupt auf die fragliche Partiarfunktion einwirkt, kann nur entweder eine Steigerung oder Herabsetzung des verwandten Symptoms zur Folge haben. Anstatt spezifischer Reizwirkungen tritt uns die spezifische Energie aller lebendigen Substanz entgegen, die generelle Eigenschaft, erregt und gelähmt zu werden.

Die Unterschiede der Reizbeantwortungen liegen dann in 3 Punkten:

1. In der „Richtung“ der Reizwirkung. Diese kann nach der Seite der Erregung oder Lähmung gehen.

2. In der Intensität der Wirkung, der „Erregbarkeit“ gegenüber einem bestimmten Reizmittel. Manches wirkt schon in sehr geringer Intensität angewandt, ein anderes erst bei hoher Intensität.

3. In dem zeitlichen Ablauf der Wirkung, die bei manchen rasch, bei manchen sehr langsam hervortritt und auch mit sehr verschiedener Geschwindigkeit abklingt.

Nur die Symptome, welche die Chemie der lebendigen Substanz liefert, könnten uns qualitative Verschiedenheiten zeigen, alle Symptome, die der Physik der lebendigen Substanz entnommen sind: die Bewegungssymptome in allererster Linie, geben ausschließlich quantitative Verschiedenheiten.

Die Zahl der physikalischen Symptome für Reizwirkungen, die wir an Protisten feststellen können, ist in den meisten Fällen sehr gering, und jedenfalls nirgend so hoch, daß durch die Summe der Kombinationsmöglichkeiten dieser Symptome die Mannigfaltigkeit der möglichen Reize erreicht würde.

Diese Überlegung allein zeigt, daß es nicht für jeden Reiz eine spezifische Reizwirkung geben kann, daß wir vielmehr bei den aller verschiedensten Einwirkungen dasselbe Bild erhalten müssen. Da nun chemische Unterschiede als Reizerfolge bei Protisten mit den heutigen Mitteln fast nie feststellbar sind, so sind wir lediglich auf physikalische Symptome angewiesen.

Nur ganz ausnahmsweise kommt die Lichtproduktion als Reizerfolg zur Beobachtung, wie z. B. bei *Noctiluca miliaris*, wo auf alle möglichen Reize hin, (chemische, thermische, mechanische) ein kurzes Aufleuchten erfolgt.

Die bisher verwendeten Symptome lassen sich unter folgenden Gesichtspunkten betrachten:

1. Veränderungen des Aggregatzustandes der Zelle oder ihrer Teile.
2. Veränderungen des Lichtbrechungsvermögens der Zelle oder ihrer Teile.

3. Formveränderungen der Zelle oder ihrer Teile.

Als besondere Rubrik muß vorläufig noch eine Gruppe von Symptomen angehängt werden:

4. Veränderungen der Färbbarkeit der Zelle und ihrer Teile.

a) In lebendem Zustande,

b) in fixiertem Zustande.

Diese Gruppe ist ein Lückenbüßer insofern viele Reaktionen, die in ihr vorkommen, auf Veränderungen des Aggregatzustandes (z. B. infolge Veränderung der Adsorptionsbedingungen) zurückzuführen sein dürften, und also unter 1. gehörten. Inwieweit außer diesem Moment wirkliche chemische Verschiedenheiten bei den Farbstoffreaktionen und ihren Veränderungen in Betracht kommen, läßt sich zurzeit gar nicht oder doch nur für einzelne Fälle entscheiden. Trotzdem sind sie als Indikatoren durchaus verwendbar, solange man ihren Wert in bezug auf die Aufklärung chemischer Verschiedenheiten nicht überschätzt.

Von den übrigen Symptomgruppen sind die

1. Veränderungen des Aggregatzustandes noch kaum als Indikatoren verwandt worden, und ihre Verwendung hat auch große Schwierigkeiten, da wir noch nicht über genügende Methoden verfügen um Änderungen in dieser Richtungen nachzuweisen. Doch liegen einige Angaben vor. So fand Kölsch,<sup>71)</sup> daß die „feste“ Pellikula der Ciliaten durch Druck verflüssigt wird, und daß andererseits beim Zerfließen an bestimmten Stellen Gerinnungen auftreten, also Übergang in den festen Aggregatzustand.

Aus den verstreuten weiteren Angaben, die man hier und da findet, ist nicht viel zu entnehmen.

So gibt Bokorny<sup>72)</sup> (S. 214) an, daß bei Einwirkung von Ammoniak in Verdünnung von 1:10000 der Infusorienleib (*Paramaecium*) „eine etwas

größere Starrheit“ gewinnt, ohne anzugeben, wie er dies festgestellt hat, bezw., wie sich die Starrheit äußert. Auch bei Angaben, wie sie Korentschewsky<sup>73)</sup> macht, z. B. die Infusorien werden „schlaff“, das Plasma wird „eine durchsichtige glasartige Masse“, kann man sich kein genaueres Bild von den Aggregatzustandsänderungen machen.

Was die möglichen Änderungen anlangt, so kann es sich wohl wesentlich um 2 Gruppen von Vorgängen handeln:

- a) Mischungen und Entmischungen,
- b) Gerinnungen und Lösungen.

Durch Entmischung können Emulsionen und Schäume entstehen, die durch Mischungen wieder verschwinden können.

Der Nachweis von Gerinnungen, also von Festwerden der Zelle oder einzelner Zellteile ist durch einfache Beobachtung nicht immer zu erbringen, wenn nicht gerade die Bedingungen hierfür so günstig sind, wie z. B. bei den Zerfließerscheinungen (s. u. Kölsch 1902).

Vielleicht können hier Methoden weiterhelfen, wie die, welche Schmaus und Albrecht<sup>74)</sup> zum Nachweis der Koagulationsnekrose der Nierenzellen verwandt haben.

Jedenfalls aber sind die Veränderungen des Aggregatzustandes häufig erst aus anderen Symptomen zu erschließen und nicht der unmittelbaren Beobachtung zugänglich.

2. Die Veränderungen des Lichtbrechungsvermögens sind sehr schlecht als Indikatoren verwendbar, weil wir keine genügend feine absolute, oder auch nur relative Bestimmungsmethode für die Größe dieser Werte besitzen. Man ist vielmehr auf eine sehr grobe Schätzung angewiesen, die noch dazu nur bei gleichen Beleuchtungsverhältnissen einigermaßen möglich ist.

Eine geringe Erweiterung findet dieses Symptomengebiet durch Verwertung des Vermögens der Doppelbrechung bei bestimmten Arten der lebendigen Substanz.

Alle Indikatoren, die in ausgedehnterem Maße bisher beim Studium von Protisten verwandt worden sind, sind Formveränderungen und Bewegungen der Zelle oder ihrer Teile.

Wir können vier Gruppen von Bewegungserscheinungen unterscheiden, deren Beeinflussung nach der Plus- oder Minusseite hin das Bild der verschiedenartigsten Reizwirkung zustande bringt:

- Plasmabewegung,
- Systolettenbewegung,
- Cilienbewegung,
- Myoidbewegung.

1. Die Plasmabewegung. In zwei recht verschiedenartigen Typen tritt uns die Plasmabewegung bei Protisten entgegen, als amöboide Bewegung und als Plasmaströmung im Innern einer Protistenzelle. Die letztere Bewegungsform, bei Pflanzen von so großer Verbreitung, spielt als Indikator für Reizwirkungen bei Protisten eine relativ untergeordnete Rolle. Wohl bietet *Amöba blattae* ein ausgezeichnetes Objekt zu ihrem Studium, und im Endoplasma der Ciliaten sind die Bahnen dieser Strömung mehrfach untersucht worden (*Carchesium*, s. Fig. 8, *Paramecium*, s. Fig. 19), aber einen systematischen Überblick über die typischen Veränderungen sind wir zu

geben nicht in der Lage. Die Veränderungen beziehen sich wesentlich auf Beschleunigung oder Verlangsamung der Strömung, und jeder der beiden Effekte kann durch die verschiedensten Reize erzielt werden.

Bei der amöboiden Bewegung (s. Fig. 20) treten die beiden Phasen der Expansion und Kontraktion sehr deutlich hervor und sind als Indikatoren von Reizwirkungen sehr gut zu verwenden.

Die Pseudopodien, an deren Formänderungen der Reizeffekt am feinsten zum Ausdruck kommt, können fadendünne Plasmastränge sein, wie z. B. bei

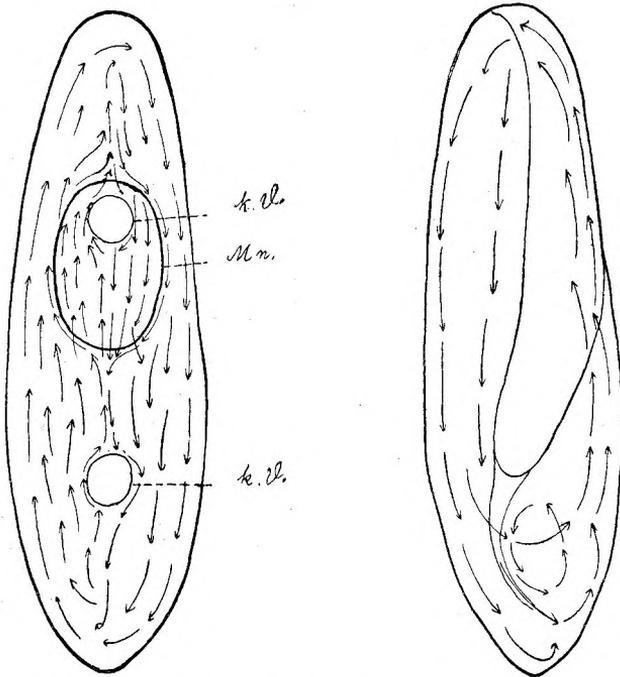


Fig. 19. Endoplasmastörungen von Paramecium. Dorsal- und Ventralansicht. Mn. Macronucleus; k.V. kontraktile Vakuole. (Nach Wallengren.)

marinen Foraminiferen und unter Süßwasserformen etwa bei Cyphoderia, Lieberkühnia u. a., oder breite, bruchsackartige Vorstülpungen von hyalinem Plasma, wie bei Amöba limax oder Pelomyxa palustris. An beiden macht sich kontraktorische Erregung durch Einziehen, expansorische durch Ausstrecken bemerkbar. Bei der Kontraktion häuft sich in den fadenförmigen Pseudopodien das Plasma zu kleinen Knötchen an, die dem gereizten Pseudopod ein sehr charakteristisches Aussehen geben (s. Fig. 21, Amphistegina lessonii).

Nicht einheitlich deutbar ist der Zustand der völligen Abkuglung nach Einziehung aller Pseudopodien. Es kann dies sowohl der Ausdruck maximaler kontraktorischer Erregung wie völliger Lähmung eventuell des Todes sein.

2. Systolettenbewegung. Die Bewegungerscheinungen pulsierender

Vakuolen sind etwas für die Mehrzahl der Protisten äußerst charakteristisches. Es handelt sich um kleine mit Flüssigkeit gefüllte Bläschen, deren Inhalt in rythmischen Intervallen durch Kontraktion des umgebenden Plasmas, meist durch eine vorgebildete Öffnung ins umgebende Medium entleert wird.

Die Systoletten können in der Ein- oder Mehrzahl vorkommen und verschiedenartige Gestalt haben.

Über die mancherlei Veränderungen, die man an einem gut ausgebildeten Systolettensystem wahrnehmen und als Reizbeantwortungen verwenden kann, orientiert wohl am besten eine etwas eingehendere Darstellung der Verhältnisse bei *Paramecium*.

Bei *Paramecium* sind zwei Systoletten vorhanden, die im Endoplasma, dicht unter dem Ektoplasma liegen, die eine im Vorderende, die andere im Hinterende. Schon dies Verhältnis kann eine Veränderung erfahren, die Zahl kann unter der Einwirkung von Reizen vermehrt werden. So kann

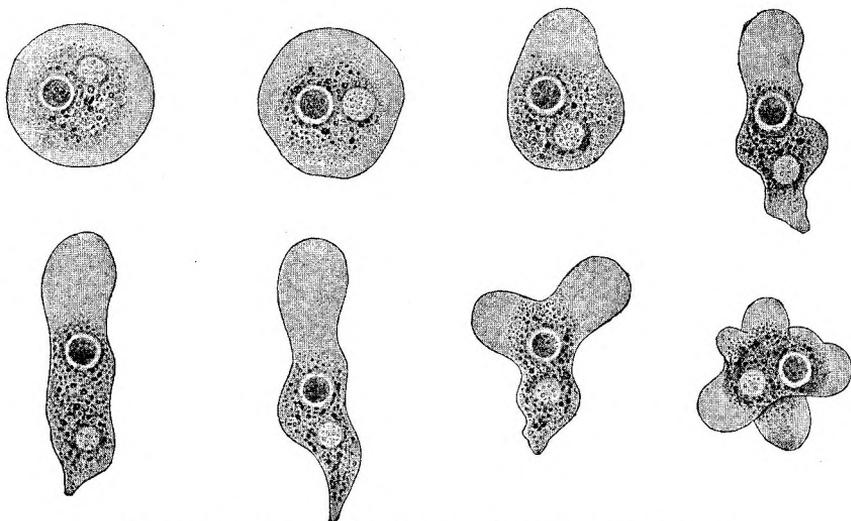


Fig. 20. Eine Amöbe in verschiedenen Formstadien beim Kriechen.  
(Nach Verworn, Allgemeine Physiologie.)

eine dritte Systolette in völlig typischer Ausbildung mitten zwischen vorderer und hinterer entstehen, oder es können sich an Stelle der normalen vorn und hinten je zwei Systoletten bilden.

Jede Systolette besteht aus der pulsierenden Vakuole und den Zuführungskanälen. Die letzteren werden meist als radiär beschrieben, was nicht ganz zutreffend ist. Wenn man genauer darauf achtet, so ergibt sich, daß ein einfach geradliniger Verlauf die Ausnahme ist, meist sind sie mehr oder minder stark gebogen. Es geht dies sehr deutlich aus Fig. 23 hervor.

Die gewöhnliche Zahl der Kanäle ist 7, ihre Länge scheint erheblich zu variieren, doch ist es im einzelnen Falle oft schwer, das Ende genau anzugeben, da allerhand Plasmaeinlagerungen eine Verfolgung unmöglich machen.

Nicht selten kommen Tiere zur Beobachtung, die 10, ja 12 Zuführungs-

kanäle zeigen, und zwar macht es den Eindruck, als läge hierin eine Reizwirkung, nicht einfach ein Ausdruck der Variabilität vor.

Der Vorgang der Bildung und Entleerung der Systolette erfolgt bei frischen Tieren so rasch, daß es schwer ist, Details zu sehen. Es gelingt aber bei Benutzung von Tieren, die schon einige Zeit unter dem Deckglas gelegen haben, eventuell leicht gedrückt sind, die verlangsamten Vorgänge genauer zu verfolgen. Der ganze Zyklus läßt sich in 6 Phasen darstellen, wie dies in Fig. 22 geschehen ist.

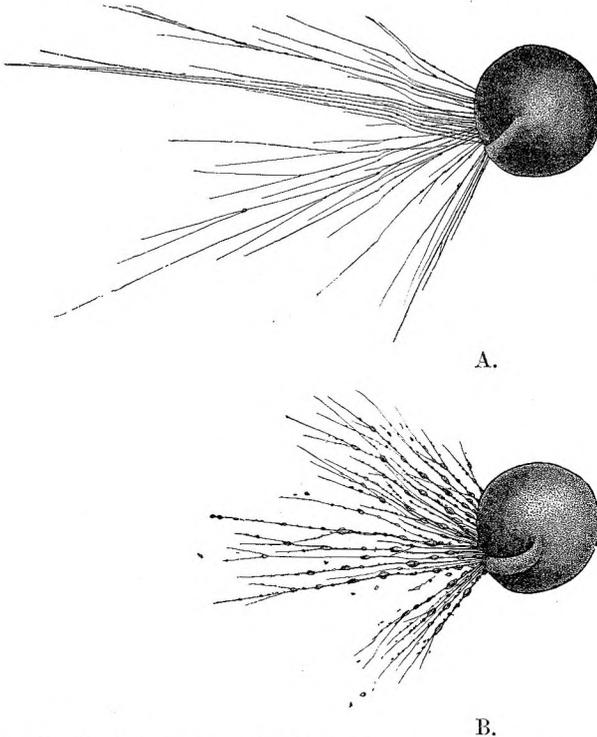


Fig. 21. *Amphistegina lessonii*. A. Ungereizt mit feinen fadenförmigen Pseudopodien; B. in Chloroformnarkose, die Pseudopodien haben sich kontrahiert und zeigen knötchenförmige Anschwellungen.  
(Nach Verworm, Allgemeine Physiologie.)

Figur 22, 1 stellt die Systolette unmittelbar vor der Entleerung dar. Die Vakuole hat ihre typische Größe erlangt und ist von einer Wand begrenzt, die heller erscheint als das umliegende Plasma. Diese Wand wird fast berührt von den Zuführungskanälen, deren proximale Enden stark kolbenförmig angeschwollen sind, und deren Lumen weithin deutlich zu erkennen ist. In diesem Zustande der Diastole verharret das System eine oder einige Sekunden, dann wird plötzlich die helle Wandzone der Vakuole breiter und glänzender, ein sicheres Zeichen, daß im nächsten Augenblick die ruckartige Entleerung erfolgt.

Figur 22, 2 zeigt den Zustand im Moment nach der Entleerung der Vakuole: der Raum zwischen den angeschwollenen Enden der Kanäle ist kleiner geworden, die Kanalenden, die als Bildungsvakuolen fungieren, sind in der Richtung der Pfeile (Fig. 22, 2) vorgerückt und ihr Volumen hat gegen Fig. 22, 1 noch zugenommen, es hat sein Maximum erreicht. Im nächsten Moment beginnt die Vereinigung der Bildungsvakuolen, wie sie durch Fig. 22, 3 und 4 dargestellt wird. Die proximalen Enden der Bildungsvakuolen fließen zusammen, die distalen Teile entleeren sich in proximaler Richtung und werden dementsprechend kürzer und dünner. Es entstehen einige größere Bildungsvakuolen, z. B. zwei wie Fig. 22, 3 es zeigt. Dann

reißt die Scheidewand dieser beiden auch ein und das Stadium Fig. 22, 4 ist erreicht, auf dem die Vakuole ihr volles Volumen, aber noch eine unregelmäßige Gestalt hat.

Auf Stadium 3 und 4 ist die Begrenzung der neugebildeten Vakuole gegen das Plasma durch keine besondere Differenzierung des letzteren mar-

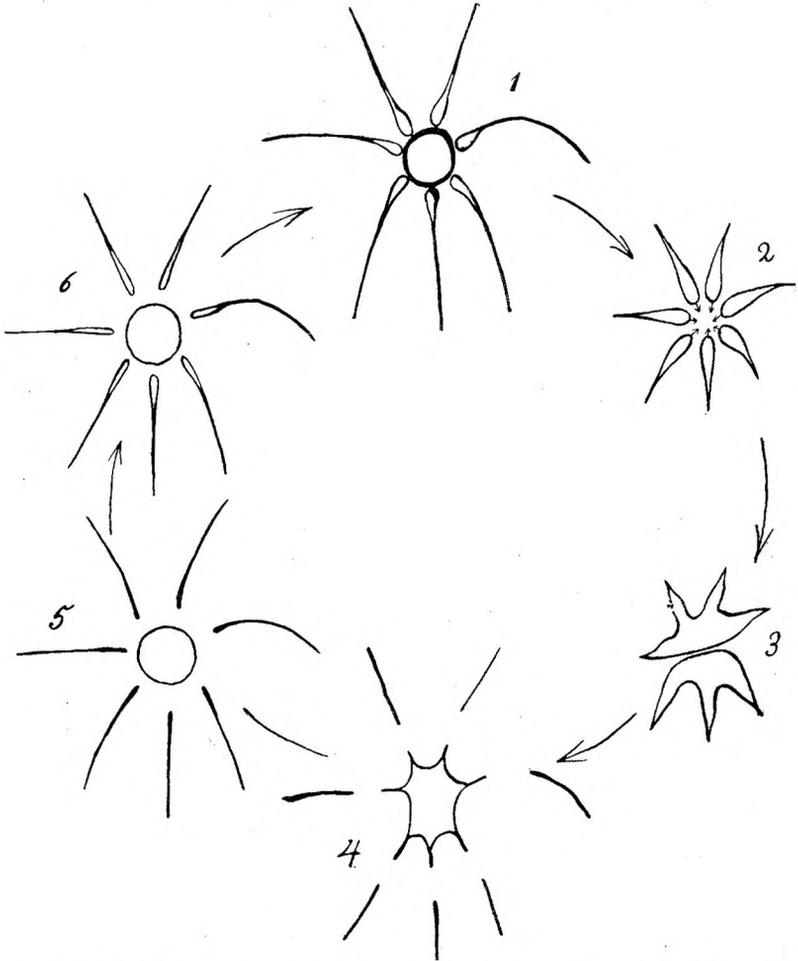


Fig. 22. Die verschiedenen Formen der Systelette von *Paramecium* während einer Entleerungsperiode. Erklärung im Text.

kiert, erst in dem Augenblick, wenn die unregelmäßig, verzerrt aussehende Vakuole (Fig. 22, 4) sich abkugelt, die Form Fig. 22, 5 annimmt, tritt die erwähnte stärker lichtbrechende Wandsubstanz in die Erscheinung.

Die Phase 5 ist dadurch ausgezeichnet, daß die Bildungsvakuolen und Zuführungskanäle, durch deren Zusammenfluß die Vakuole entstand, verschwunden sind, so daß die Vakuole von einer Zone umgeben ist, in der

keine Kanäle bestehen. Diese bilden sich vielmehr distal wieder neu, wie Fig. 22, 5 zeigt.

Phase 6 zeigt nur darin einen Fortschritt gegen 5, daß die Kanäle länger geworden, ihre proximalen Enden der Vakuole näher gekommen, und gleichzeitig etwas angeschwollen sind, zu den Anfängen der Bildungsvakuolen. Die Veränderung, durch welche Phase 6 in Phase 1 übergeht, ist ohne weiteres ersichtlich und damit der Kreis der Veränderungen geschlossen.

Bemerkt werden muß nur noch, daß von Phase 5 bis Phase 1 eine Vergrößerung der Vakuole erfolgt, die nicht durch Flüssigkeitsentleerung aus den Zuführungskanälen bedingt ist, sondern ihren Grund in direkter Aufnahme von Flüssigkeit aus dem umgebenden Plasma haben muß.

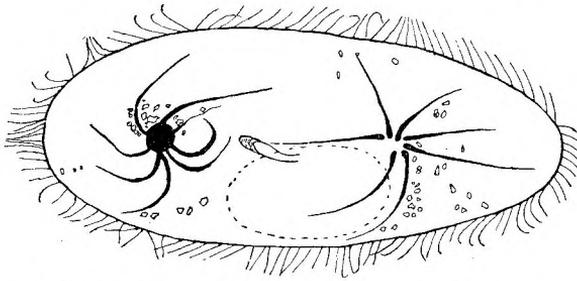


Fig. 23. Paramecium mit seinen Systoletten und deren Zuführungskanälen.

Ein so vielgestaltiger Vorgang kann natürlich auch in mannigfacher Weise in seinem Ablauf verändert werden. Wir können unterscheiden:

1. Veränderungen an den Zuführungskanälen: Daß deren Zahl zunehmen kann, wurde schon erwähnt, ob sie vielleicht auch abnehmen kann ist unbekannt. Außerdem aber können die Kanäle abnorm breit und lang, dilatiert sein und es kann die Entleerung in proximaler Richtung unvollkommen sein, so daß die Kanäle dauernd mit deutlich erkennbarem Lumen bestehen.

2. Veränderungen der Bildungsvakuolen: Wie aus der Darstellung des normalen Vorganges der Systolettentätigkeit hervorgeht, stellen die Bildungsvakuolen eigentlich nur Auftreibungen der proximalen Enden der Zuführungskanäle dar. Dieser Zustand kann eine Veränderung erfahren, indem die Bildungsvakuolen wirklich als solche imponieren, die sich scharf gegen die Kanäle absetzen und mehr oder minder Kugelgestalt annehmen. Als weitere Abnormität können diese Bildungsvakuolen längere Zeit bestehen bleiben.

3. Veränderungen der Vakuole selbst. Diese können sich beziehen:

- a) auf den Bildungsvorgang,
- b) auf das diastolische Volumen,
- c) auf den Entleerungsvorgang.

Die Bildung, die normalerweise sehr rasch vor sich geht, kann durch alle möglichen Reize verlangsamt werden, es können Teilvakuolen in verschiedener Zahl und mannigfacher Form lange bestehen bleiben.

Das diastolische Volumen kann abnorm groß oder abnorm klein sein, wobei in beiden Richtungen erhebliche Variationen zur Beobachtung gelangen. Was den Entleerungsvorgang anlangt, so erfolgt auch er sehr rasch, kann aber unter Reizwirkungen sehr verlangsamt werden. Wie schon Joseph und Prowazek (1902) erwähnen, und ich bestätigen kann, dauert er mitunter 1 bis 2 Sekunden. Auch unvollständige Entleerungen kommen vor, denen dann gelegentlich nach wenigen Sekunden die Entleerung des Restes folgt (vgl. auch Joseph und Prowazek (1902).

Endlich bleibt als äußerst wichtige Veränderung noch die des Rhythmus zu erwähnen.

Die Angaben über Systolettenrhythmus, die bisher vorliegen, beziehen sich durchgängig auf den Rhythmus der eigentlichen Vakuole und die Masse der folgenden Beobachtungen bezieht sich auch hierauf. Es muß aber besonders betont werden, daß dieser Rhythmus durchaus nicht identisch ist mit dem der Zuführungskanäle. Normalerweise entfällt ja auf jede Entleerung der Kanäle auch eine Entleerung der zentralen Vakuole, aber diese Übereinstimmung ist keine notwendige. Bei verlangsamttem Vakuolenrhythmus kann man vielmehr sehr häufig beobachten, daß sich die Kanäle zweimal in proximaler Richtung entleeren, wodurch natürlich die zentrale Vakuole ein dementsprechend größeres Volumen erhält. Ihre Entleerung tritt dann erst kurz nach der zweiten Entleerung der Kanäle ein. Bei so riesig vergrößerten Vakuolen, wie man sie gelegentlich zu sehen bekommt, werden sogar wohl noch mehr als zwei Entleerungen der Kanäle erfolgen, die zu enormer Dilatation der Vakuole führen müssen, wenn diese bereits unfähig geworden ist, sich zu entleeren.

Die Veränderungen des Rhythmus der zentralen Vakuole sind mehrfach als Indikatoren für Reizwirkungen benutzt worden.

Durch alle Reize, die überhaupt auf die Vakuolenfrequenz einwirken, kann natürlich nur entweder eine Beschleunigung oder eine Verlangsamung bewirkt werden. Um beide konstatieren zu können, muß die normale Entleerungsfrequenz bekannt sein.

Joseph und Prowazek (1902) haben schon hervorgehoben, daß sich alle die bisherigen Angaben nicht als allgemeingültig erwiesen haben.

Wie außerordentlich variabel die Entleerungsfrequenz schon bei Tieren ist, die als völlig normal erscheinen, dafür will ich einige Beispiele geben. Die Angaben beziehen sich stets auf Tiere, die frisch der Kultur entnommen sind und die unter dem Deckglas nicht gedrückt, sondern noch freier Bewegung, allerdings in einer sehr dünnen Wasserschicht, fähig waren.

Wenn man die Zeit von je 10 aufeinander folgenden Entleerungsperioden als Ausdruck der Frequenz betrachtet, so ergeben sich folgende Zahlen:

	Vordere S.	Hintere S.
Tier	I 69	71
"	II 77	131
"	IV 80	—
"	V 163	197
"	VI 217	235
"	VII 222	265
"	VIII 318	398.

Die mittlere Entleerungsfrequenz würde also zwischen 6,9 Sekunden und 39,8 Sekunden schwanken. Aber diese Art der Darstellung gibt noch kein genügendes Bild von der außerordentlichen Variabilität des Systolettenrhythmus. An demselben Tier, an derselben Systolette beobachtet man unter scheinbar ganz gleichen Außenbedingungen sehr verschiedene Frequenzen. So zeigt die hintere Systolette von Tier V Entleerungsfrequenzen von 34 und 36 Sekunden, andererseits einige Schläge später solche von 15 und 16 Sekunden.

Den bedeutendsten Einfluß auf die Systolettenfrequenz hat entschieden die Temperatur.

Qualitativ war dies durch Roßbachs<sup>75)</sup> Untersuchungen schon bekannt, M. Kanitz<sup>76)</sup> zeigte, daß man, für einige Formen in ziemlich weiten Intervallen, die Pulsationsgeschwindigkeit als eine Exponentialfunktion der Temperatur darstellen kann. Bei einer Temperaturerhöhung um  $10^{\circ}$  wächst die Pulsationsgeschwindigkeit ungefähr auf das Doppelte. Der Faktor  $Q_{10}$ , der die Steigerung für  $10^{\circ}$  angibt, beträgt z. B. für *Euplotes Charon* zwischen  $5^{\circ}$  und  $24^{\circ}$  1,65. Die folgenden Zahlen, nach Kanitz, zeigen einige Fälle, bei denen die Werte für  $Q_{10}$  in ziemlich weitem Temperaturintervall nahe bei 2 liegen, zeigen aber gleichzeitig auch, wie erhebliche Abweichungen von dieser, nach der einfachen chemischen Kinetik zu erwartenden Reaktionsbeschleunigung, vorkommen.

Temp.	Entleerungsdauer in Sekunden	$Q_{10}$
<i>Euplotes Charon.</i>		
$5^{\circ}$	61,5	
$10^{\circ}$	48	1,65
$20^{\circ}$	28	1,7
$24^{\circ}$	23,5	1,6
$30^{\circ}$	23	
<i>Stylonychia pustulata.</i>		
$5^{\circ}$	18	
$10^{\circ}$	14	1,65
$20^{\circ}$	6	2,15
$27^{\circ}$	4	1,8
$30^{\circ}$	4	
<i>Glancoma colpidium.</i>		
$3^{\circ}$	110	
$7^{\circ}$	50	7

Temp.	Entleerungsdauer in Sekunden	Q <sub>10</sub>
9°	30	13
19°	10	3,0
27°	6,5	1,7
30°	5,5	1,6

Jedenfalls bedeutet die Einsicht, daß die Wirkung einer Temperatursteigerung dieser nicht linear proportional ist, sondern nach einem Exponentialgesetz erfolgt einen wesentlichen Fortschritt zur Analyse der Temperaturwirkungen.

Außer der Temperatur beeinflussen aber offenbar noch eine Reihe anderer Faktoren den Rhythmus.

So ist die Frequenz häufig bedeutend herabgesetzt, wenn die Tiere thigmotaktisch an einem festen Körper haften (Pütter 1900; Provazek 1901), während Berührung der Cilien mit der Oberfläche einer Luftblase die Frequenz bedeutend erhöht (Pütter 1904).

3. Cilienbewegung. Die Cilien dienen in den meisten Gruppen der Protozoen als Fortbewegungsorganellen, teils in Form einzelner oder weniger Geißeln, teils als dichter Cilienbesatz, teils auch zu größeren Verbänden vereinigt, als Cirren und Membranellen.

Die Bewegungsformen sind recht mannigfaltig und bieten eine Reihe von Veränderungen, die als Zeichen von Reizwirkungen dienen können.

Im übersichtlichsten Falle, wenn die Bewegung nur in einer Ebene vor sich geht, besteht sie in einer Kontraktionsbewegung in der Richtung des Hauptschlages und einer Expansionsbewegung, durch die die Ruhelage wieder erreicht wird.

Hierbei ist in erster Linie die Frequenz und die Amplitude des Ausschlages variierbar.

Leider ist eine genaue Analyse der verschiedenartigen Beeinflussungen bisher nicht gemacht, sondern als Indikatoren der Cilienbewegung ist im allgemeinen die Schwimgeschwindigkeit verwandt, oder die Strömung feiner Tuschkörner (Jennings), die dem Präparat beigegeben werden. In beiden Fällen beobachtet man die algebraische Summe verschiedener Wirkungen. Die Schwimgeschwindigkeit ist bedingt durch die Differenz der Geschwindigkeit der kontraktorischen und expansorischen Bewegungen der Wimpern, sowie durch die Ruhelage der Cilien, die in bezug auf den Körper nicht stets dieselbe zu sein braucht und dasselbe gilt für die Körnerströmung. Wird vollends die Koordination in den einzelnen gleichartigen Ciliengruppen gestört, so gaben Schwimgeschwindigkeit und Körnerströmung gar keinen Anhalt über die wirklichen Veränderungen der Cilienbewegung, die nur durch direkte Beobachtung ermittelt werden kann.

Von den möglichen Beeinflussungen der Bewegungsapparate kommen bei den einzelnen Formen ganz bestimmte feste Kombinationen in besonderer Häufigkeit vor und bedingen höchst charakteristische Bewegungen, die immer

wieder zur Beobachtung kommen und sich aus der Art des Zusammenwirkens der verschiedenen Bewegungsorganellen und der Körperform des Organismus mit Notwendigkeit ergeben.

Jennings bezeichnet diesen Bewegungskomplex als „Motorreflex“ und hat ihn bei einer Reihe von Protisten analysiert.

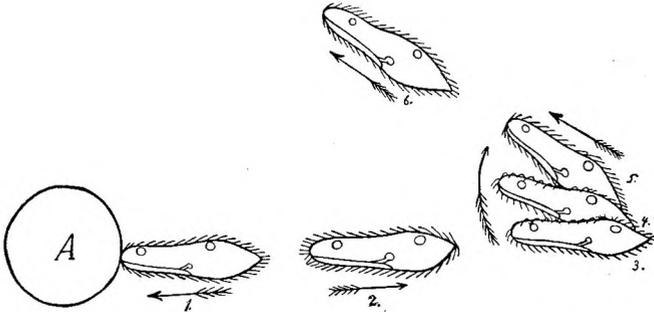


Fig. 24. Reaktion von *Paramecium* auf einen Berührungszreiz hin. (Nach Jennings.)

Das Wesentlichste ist hierbei die ein- oder mehrmalige Umkehr der Richtung des Hauptschlages bestimmter Ciliengruppen (s. Fig. 24); z. B. schlagen bei *Paramecium* auf die verschiedensten Reize hin die Körper-

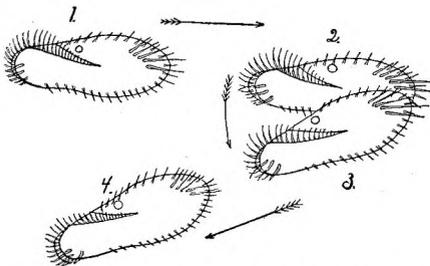


Fig. 25. Reaktion von *Oxytricha* auf einen Reiz. (Nach Jennings.)

cilien für einige Augenblicke so, daß ihr Hauptschlag nach vorne gerichtet ist, wodurch das Tier rückwärts schwimmt. Infolge seines asymmetrischen Baues, und da außerdem die Peristomwimpern die Schlagumkehr nicht mitmachen, geht die Bewegung nicht genau rückwärts, sondern das Tier dreht sich gleichzeitig nach der dem Peristom abgewandten Seite hin.

In ähnlicher Weise, nämlich dadurch, daß bestimmte Ciliengruppen, besonders die Peristomcilien, keine

Schlagumkehr erleiden, kommen auch bei anderen Formen: *Spirostomum*, *Stylonychia*, *Oxytricha* (s. Fig. 25) derartige Bewegungsformen zustande. Sehr auffällig erscheint bei *Stylonychia mytilus* eine Form der Reizbeantwortung, bei der die Tiere rückwärts im Kreise laufen (s. Fig. 26). Sie kommt lediglich dadurch zustande, daß die Umkehr der Hauptschlagrichtung der Cilien des Körperendes und der Laufwimpern länger anhält, als bei einem einfachen „Motorreflex“, denn da die Peristomwimpern ihre normale Schlagrichtung beibehalten, muß ein „Rückwärtslaufen im Kreise“ zustande kommen.

Eine besonders auffällige Art der Reizbeantwortung sind die taktischen Erscheinungen bei Protisten. Auf einseitige, oder einseitig überwiegende Reize hin bewegen sich die Tiere in ausgesprochener Weise zur Reizquelle hin (positive Taxis) oder von der Reizquelle weg (negative Taxis) oder

nehmen endlich eine quere Lage gegen die Richtung der äußeren Einwirkung an (transversale Taxis). Die eingehenden Analysen dieser Bewegungsvorgänge, die Verworn, Jensen, Ludloff, Pütter, Wallengren u. a. geliefert haben, lassen deutlich erkennen, daß es sich hierbei nicht um spezifische Reizwirkung handelt, sondern lediglich um bestimmte Kombinationen der oben angeführten Reizwirkungen auf die Ciliatenbewegung. Bei der Analyse der taktischen Reizerscheinungen und des Mechanismus der Anhäufungen von Tieren an Stellen bestimmter Reizintensität, sind die Eigen-

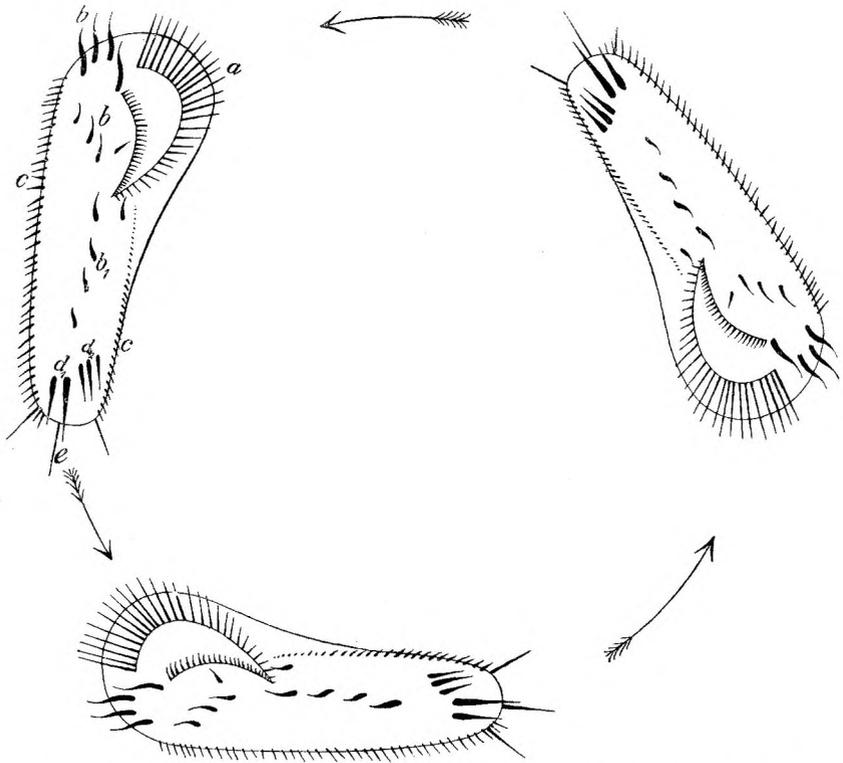


Fig. 26. „Rückwärtslaufen im Kreise“ bei *Stylonychia mytilus*. Ein Reizeffekt, der durch die spezielle Kombination der Bewegungsorganellen bei verschiedenen Reizen zustande kommt.

tümlichkeiten der Schwimmbewegungen der Objekte besonders zu berücksichtigen, wie sie z. B. Figur 27 für *Paramecium* zeigt.

Auf die Einzelheiten der Bewegungsanalyse kann hier nicht eingegangen werden, es sei nur erwähnt, daß die scheinbar von dem gewöhnlichen Modus der polaren Erregung der Protisten so abweichenden Formen der transversalen Galvanotaxis (Pütter für *Stylomychia*) und anodischen (Wallengren für *Opalina*) als Folgen bestimmter Kombinationen von äußeren Bedingungen analysiert werden konnten, bei denen das für Protisten anscheinend allgemein gültige Gesetz der polaren Erregung selbst keine Ausnahme erfährt.

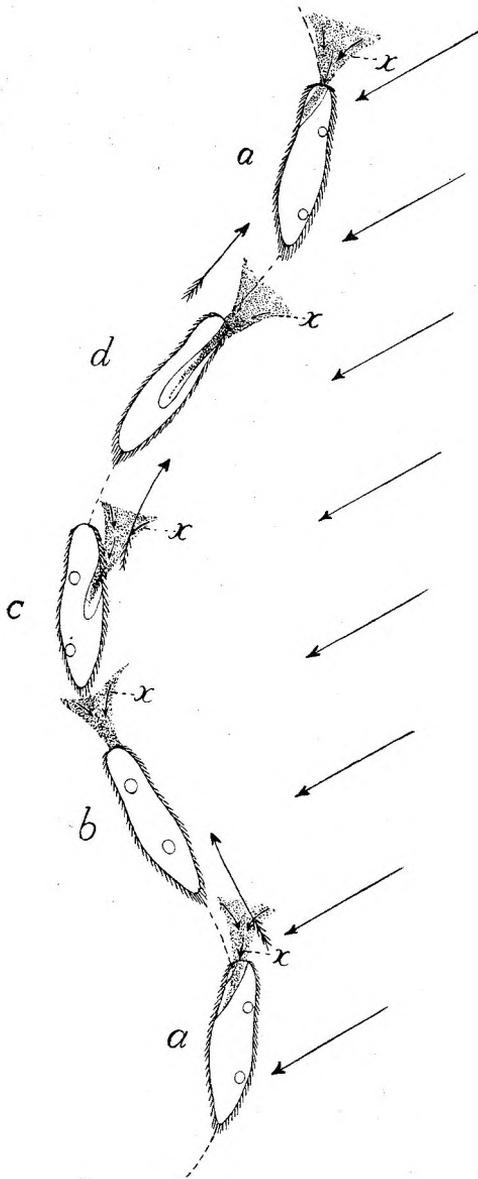


Fig. 27. Schwimmbahn von *Paramaecium* auf die Ebene projiziert; bei x ist der Strudel, den der Schlag der Peristomwimpern erzeugt, angedeutet. Die Pfeile zeigen, welche verschiedenen Stellungen *Paramaecium* infolge seiner eigenartigen Bewegungsbahn gegen einen Reiz bestimmter Richtung nacheinander einnimmt. (Nach Jennings.)

4. Myoidbewegung. Die Myoidbewegung kommt bei Protisten mehrfach vor. So unter den Flagellaten, z. B. bei *Poteriodendron* und unter den Ciliaten bei *Spirostomum*, *Stentor* und einigen Vorticellinen. Die Reizbeantwortung besteht stets in einer Kontraktion der Myoneme, die meist auch bei dauernder Reizung nur eine vorübergehende ist.

Sehr charakteristisch ist in dieser Hinsicht das Stielmyoid von *Vorticella*, das sich auf Reize hin spiralförmig aufrollt (s. Fig. 28). Ist nur ein Myoid vorhanden, so ist das Bild der Erregung stets dasselbe, gleichviel wodurch es induziert ist, sind dagegen mehrere Myoide vorhanden, so können physiologische Verschiedenheiten bestehen und durch verschiedenartige Beeinflussung einzelner Gruppen können eine Reihe von verschiedenen Bildern der Reizwirkung zustande kommen.

Als Beispiel mag *Spirostomum* dienen. Hier sind über den ganzen Körper zwei Systeme von Myonemen verteilt, eine Längsschicht und eine Ringschicht und außerdem begrenzen zwei besonders stark entwickelte Myoneme das Peristom (Maier<sup>77</sup>) 1902).

Da die drei Systeme in ihrem Kontraktionszustande relativ unabhängig voneinander sind, können ganz verschiedene Bilder zustande kommen, wie sie a. a. O. analysiert sind<sup>78</sup>).

Physiologisch charakteristisch für die Myoneme ist zunächst ihre Zuckungsfrequenz: Reizt man durch Klopfen auf die Gaskammer (s. u.) die Myoide mechanisch und läßt den neuen Reiz erst dann einwirken, wenn eben volle Streckung nach der vorigen Reizkontraktion

erfolgt ist, so erhält man die Zahl der Zuckungen, die zu einer bestimmten Zeit z. B. 30 Sekunden möglich sind. Für *Spirostomum* fanden sich Werte zwischen 18,2 und 27,3 je nach dem Zustand der Tiere. Bei Tieren in gleichem physiologischem Zustande sind die Werte sehr konstant und ihre Veränderung kann daher leicht als Indikator von Reizwirkungen dienen.

Setzt man diese Art der Reizung längere Zeit fort, z. B. etwa 100 Zuckungen ohne Unterbrechung, so tritt Ermüdung ein, die sich darin äußert, daß die Zuckungsfrequenz um 30 bis 50 Proz. abnimmt. Werden die Einzelreize rascher appliziert, als daß volle Streckung dazwischen erfolgen könnte, so tritt eine mehr oder weniger vollständige Dauerkontraktion ein. Die Reizfrequenz bei der vollen Dauerkontraktion einsetzt ist sehr konstant; bei 110 Reizen pro Minute bestehen noch Spuren von Streckungen zwischen den einzelnen Kontraktionen, bei 120 Reizen ist nichts derartiges mehr zu erkennen.

Auf länger dauernde tetanische Reizung hin (2—3 Reize pro Sekunde) werden die Tiere wiederum ermüdet und es erfolgt mehr oder weniger vollständige Streckung trotz fortdauernder Reizung. Es bildet sich hier ein langdauerndes Refraktärstadium aus, das bei Tieren von besonders geringer Erregbarkeit schon nach einem Einzelreiz nachweisbar ist, indem von einer Reihe schwacher Reize stets nur der dritte, vierte, fünfte oder noch seltener einer wirksam ist. Was den Umfang der Kontraktionen anlangt, so sind sie für Einzelreize und tetanische Reize gleich groß, es erfolgt keine Summation der Wirkung, vielmehr löst jeder Reiz, der überhaupt wirkt, maximale Kontraktionen aus („Alles oder Nichts“).

Sehr auffällig ist beim Studium der Reizerfolge am Myoidsystem die Neigung zu rhythmischen Reizbeantwortungen, die häufig auf konstante Reize hin erfolgen. Solche Rhythmenbildung wird beobachtet, wenn die Tiere in ein Gemisch gleicher Teile Kulturlösung und 0,8 Proz. NaCl-Lösung gebracht werden, oder bei Zusatz schwacher Lösungen von Magnesiumsulfat. Die von Biedermann beschriebene Salzlösung, in der der Skelettmuskel rhythmische Kontraktionen zeigt, löst keine besonders typischen Reihen von Rhythmen aus.

Auch ohne künstliche Reizung treten solche rhythmischen Zuckungen manchmal in sehr auffallender Weise an *Spirostomum* (und *Lacrimaria*) auf. Sie scheinen völlig spontan zu sein, aber die Beobachtung, daß nur Tiere,

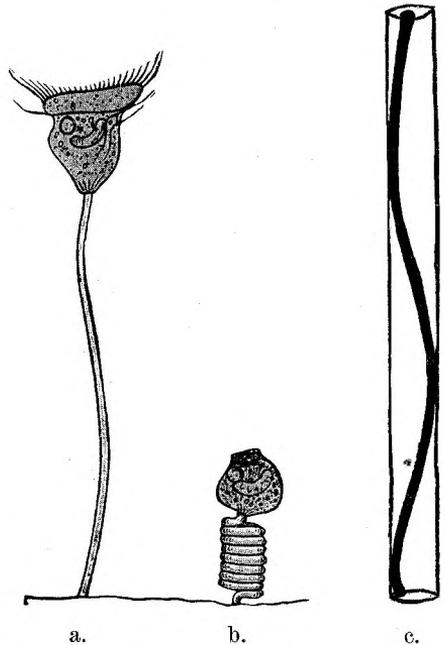


Fig. 28. Vorticella. a. Totalansicht in gestrecktem, b. in kontrahiertem Zustande. c. Der Stiel mit dem Myoid stärker vergrößert. (Nach Verworn, Allgemeine Physiologie.)

der überhaupt wirkt, maximale Kon-

die umherschwimmen, die Erscheinung zeigen, während sie bei denselben Tieren sofort aufhört sobald sie etwa thigmotaktisch geworden sind und so zu schwimmen aufgehört haben, erlaubt wohl die Deutung, daß es die Reibung der Cilien am Wasser bei der Fortbewegung ist, die als konstanter, schwacher Reiz wirkt und einen Erfolg auslöst, der rhythmisch ist, infolge des relativen Refraktärstadiums, das jeder Zuckung folgt (s. o.).

Symptome der Überreizung. Jeder Reiz, der über eine gewisse Stärke und Dauer hinaus gesteigert wird, ruft endlich den Tod der Organismen hervor. Bevor dieser eintritt gehen häufig Prozesse vor sich, die als Symptome der Überreizung, der Schädigung durch zu starke Reize anzusehen sind, und als solche methodisches Interesse haben. Bei Ciliaten Infusorien ist es zunächst eine taumelnde Bewegung, bei der die Tiere wenig von der Stelle kommen, die dadurch erzeugt wird, daß die Körpercilien fast schon gelähmt sind, während die widerstandsfähigeren Gebilde der Peristomregion noch lebhaft schlagen, dadurch kommt das Umherkreiseln auf der Stelle zustande.

Als weiteren Erfolg sehr starker Reize kommt es zum Ausschleudern der Trichozysten und endlich beginnt, oft unter vorhergehender starker Formänderung des ganzen Körpers, das Zerfließen<sup>79)</sup>. Unter den Gestaltsänderungen ist die „Zipfelbildung“ am Hinterende von *Paramaecium* eine besonders charakteristische und oft beschriebene Erscheinung.

Auch diese, für jede Überreizung bezeichnenden Symptomkomplexe sind aus Unkenntnis ihrer allgemeinen Verbreitung oft als „spezifische“ Reizerfolge beschrieben worden.

## b) Technik der Reizversuche.

1. Mechanische Reize. Um Berührungsreize auf Protisten wirken zu lassen, bedarf es meist keiner besonderen Hilfsmittel, denn die mancherlei Verunreinigungen, Detritusballen, Bakterienhaufen usw., mit denen gewöhnlich die Untersuchungsobjekte vermenget sind, geben genug Flächen, Ecken und Spitzen ab, an denen Berührung erfolgen und als Reiz wirken kann. Bei derartigen Berührungsreizen ist es aber nicht ausgeschlossen, daß gleichzeitig die chemische Beschaffenheit der berührenden Körper als Reiz wirkt, und so ist es für einwandfreie Versuche besser, die Tiere gut zu reinigen (s. o.) und dann Fasern von Filtrierpapier, die als chemisch indifferent anzusehen sind, den Präparaten beizufügen. Den Reizerfolg der totalen Thigmotaxis den man in solchen Fällen zu sehen bekommt, zeigt Fig. 29.

Als weitere Form des mechanischen Reizes kommt die generelle Erschütterung in Betracht, die man in primitiver Weise durch Klopfen auf den Objektträger erreichen kann. Etwas besser läßt sich diese Art des Reizes applizieren, wenn man im hängenden Tropfen beobachtet, und das Deckglas auf eine Gaskammer (s. S. 24) auflegt. Klopft man auf die Gaskammer, so werden die Erschütterungen stärker und sind auch ziemlich gleichmäßig zu erhalten. Auch zur Erteilung längerer Reihen von Reizen ist diese Methode empfehlenswert, wobei die Stöße, falls sie in gleichen Intervallen erfolgen sollen, nach dem Takt eines Metronoms erteilt werden können.

Einen Apparat, der in gleichmäßigerer Weise abstufbare mechanische

Reize erteilt, besitzen wir nicht. Bei frequenten Reizen (2—3 pro Sekunde) zeigt sich bald ein Unwirksamwerden einer Reihe von Reizen, oder, falls das gereizte Gebilde dazu fähig ist, eine Dauererregung.

Mechanische Reize von hoher Frequenz bei geringer Massenbewegung, wie die akustischen Reize sie darstellen, scheinen im allgemeinen unwirksam für Protisten zu sein.

Eine besondere Form des mechanischen Reizes wird durch strömendes Wasser ausgeübt. In einer Röhre eine geeignete Strömungsgeschwindigkeit herzustellen, die die Objekte nicht mechanisch mitreißt, aber doch stark genug ist als Reiz zu wirken, ist Jennings<sup>80)</sup> in der Weise gelungen, daß er eine Glasröhre in der Mitte eine Strecke weit dünn auszog und in diesem Teil die Parameecien brachte. Beide Röhrenden werden mit kleinen Gummikappen geschlossen, wie man sie für Pipetten verwendet und nun durch Druck auf die eine das Wasser mit verschiedener Geschwindigkeit durch den verjüngten Teil der Röhre gedrückt (s. Fig. 30). Bei einer gewissen Geschwindigkeit orientiert sich die Mehrzahl der Parameecien gegen den Strom und schwimmt in dieser Richtung. Sehr gut gelingt es langsame gleichmäßige Strömungen herzustellen, wenn man zwei verschieden hochstehende Wassergefäße durch Streifen von Filtrierpapier in Verbindung setzt, in denen beständig ein Strom vom höheren zum niedern läuft, eine Anordnung, die für das Studium der Rheotaxis bei Mycetozoën sehr geeignet ist (Stahl).

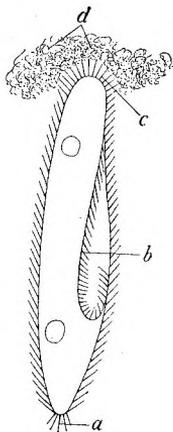


Fig. 29. Paramecium an einem Detritusballen in totaler Thigmotaxis.



Fig. 31. Negative Geotaxis von Paramecium. (Nach Jensen a. Verworn.)

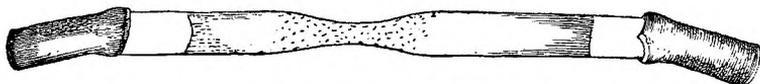


Fig. 30. Anordnung zur Demonstration negativer Rheotaxis bei Paramecium. (Nach Jennings. Erklärung im Text.)

Als Schwerkraft wirken mechanische Reize dauernd auf alle Organismen ein, sobald sie ihre Orientierung gegen die Lotrichtung verändern. Dieser Reiz ist in hervorragender Weise ein ordnender, wie die verbreiteten Erscheinungen der Geotaxis zeigen (s. Fig. 31). Im Experiment kann man, wie Jensen gezeigt hat, die Schwerkraftwirkung durch Zentrifugalwirkung ersetzen.

Zur Entscheidung der Frage, ob eine Ansammlung von Organismen am obersten oder untersten Ende einer Wassersäule als negativ oder positive Geotaxis anzusehen ist, müssen alle anderen Reizquellen ausgeschaltet werden, z. B. Bakterienanhäufungen am Grunde eines Glases, durch die chemotaktisch eine Ansammlung anderer Protisten, z. B. Parameecien verursacht sein könnte.

Das Licht kann gleichfalls ähnliche Anhäufungen hervorrufen, weshalb totale oder partielle Verdunkelung des Versuchsgefäßes nötig sein kann. Auch an die Sauerstoffspannung, die von der Oberfläche nach der Tiefe abnimmt, ist als Reiz zu denken. Die Wirkung dieses Faktors schaltet man z. B. dadurch aus, daß man die Versuchsröhre mit dem zugeschmolzenen Ende nach oben aufstellt, wobei die untere Öffnung in ein Wassergefäß taucht.

Die Geotaxis ist in ihrem Eintreten durch bestimmte Bedingungen zu unterdrücken, wie Sosnowski<sup>81)</sup> gezeigt hat. Ob die Wirkung erhöhten

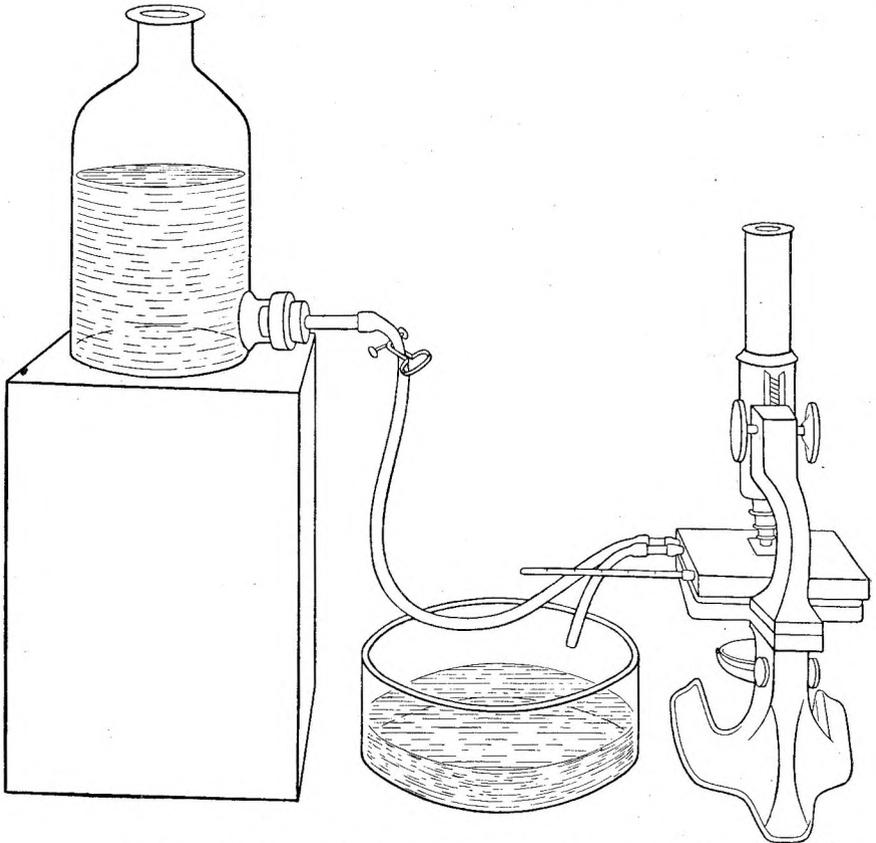


Fig. 32. Anordnung zum Studium der Temperaturwirkung auf Protozoen.  
(Nach Verworn, Physiologisches Praktikum.)

hydrostatischen Druckes als eine Wirkung mechanischer Reize anzusehen ist, mag dahingestellt sein. Es sei hier nur erwähnt, daß erst bei längerer Einwirkung sehr hoher Drucke (ca. 600 Amp.) eine Wirkung auf Protozoen zu erkennen ist, die sich in einer Schädigung, bezw. Abtötung zeigt. Die Technik der Versuche hat P. Regnard<sup>82)</sup> entwickelt.

2. Thermische Reize. Um verschiedene Temperaturen auf Protisten einwirken zu lassen, bedient man sich am besten heizbarer Objektische. Die alte Konstruktion nach Max Schultze ist nur für ganz grob orien-

tierende Versuche zu empfehlen, da die Angaben des Thermometers meist erheblich höher sind, als die wirkliche Temperatur in dem untersuchten Präparat. Außerdem gestattet diese Einrichtung keine Abkühlung unter Zimmertemperatur.

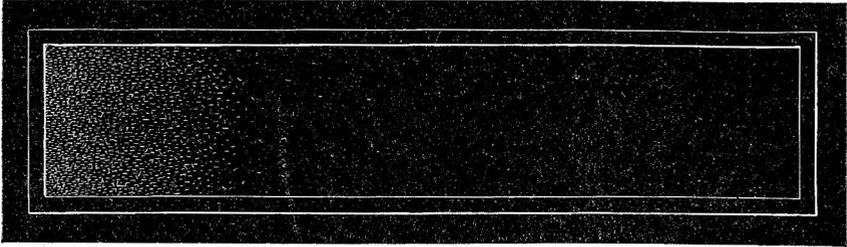


Fig. 33. Thermotaxis von Paramecium. (Nach Mendelssohn aus Verworn.)

Sehr bequem ist die in der Bakteriologie vielfach benutzte Form des heizbaren Objektisches, die Fig. 6 zeigt: hier erreicht bei längerer Durchströmung der hängende Tropfen wohl sehr nahe die Temperatur des durchfließenden Wassers, dessen Temperatur bis nahe an Null gebracht werden

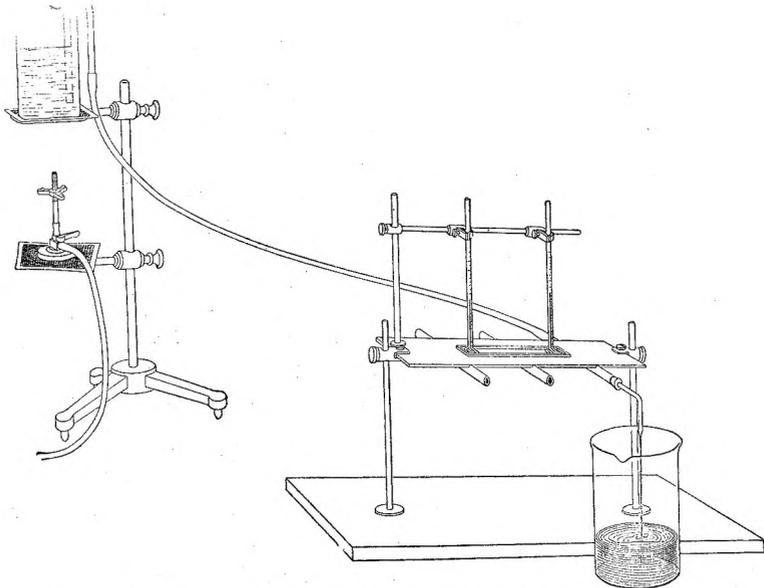


Fig. 34. Anordnung zur Demonstration der Thermotaxis von Paramecium. (Nach Mendelssohn aus Verworn.)

kann (eventuell bei Verwendung von Salzlösung sogar tiefer). Die Art der Benutzung geht ohne weiteres aus Fig. 32 hervor.

Zum Studium der Thermotaxis sind diese Anordnungen mit allgemeiner gleichmäßiger Erwärmung natürlich nicht verwendbar. Mendelssohn benutzte hierzu eine kleine Ebonitwanne (Fig. 33), deren einzelnen Teile auf

verschiedene Temperaturen gebracht werden, indem durch Röhren kaltes oder warmes Wasser hindurchgeleitet wird. Die Temperatur wird direkt in der Wanne gemessen. (Anordnung s. Fig. 34.) Auf dem schwarzen Grunde der Ebonitwanne sieht man schon mit bloßem Auge sehr gut die Anhäufungen der thermotaktisch vereinigten Paramaecien. Oberhalb 24 bis 28 ° C. sind die Paramaecien negativ thermotaktisch, unterhalb dieser Temperatur dagegen positiv.

Auch unter dem Mikroskop läßt sich die negative Thermotaxis demonstrieren. Verworn benutzte als Objekt *Amoeba limax* und verfuhr folgendermaßen. Das Deckglas mit den Amöben wird auf eine Glasplatte gebracht, die mit schwarzem Papier beklebt ist und nur durch einen scharf-randigen Ausschnitt dem Licht und der strahlenden Wärme den Zutritt gestattet. Zwischen Objektisch und Spiegel des Mikroskops wird eine undurchsichtige Platte geschaltet und im auffallenden Licht eine Amöbe so eingestellt, daß sie im Verfolg ihrer Kriechrichtung über die Grenze des schwarzen Papiers kriechen muß. In dem Moment, wo dies erfolgt, wird die abblendende Platte entfernt und die konzentrierten Sonnenstrahlen treffen das Vorderende der Amöbe, deren Hinterende noch im Schatten des Papiers ist. Sofort beginnt die Amöbe ins Dunkle zurückzukriechen. Daß es sich hierbei um Wärme- und nicht um Lichtwirkung handelt, zeigt die Beobachtung, daß der Erfolg ausbleibt, wenn durch zwischengeschaltete Eis- oder Alaunplatten die Wärmestrahlung stark herabgesetzt ist bei wenig geminderter Helligkeit, daß dagegen bei Zwischenschaltung einer Lösung von Jod in Schwefelkohlenstoff, die die Wärmestrahlen passieren läßt, der Erfolg eintritt. Die Temperatur muß über 35 ° C. betragen, damit die Reaktion sicher erfolgt.

3. Chemische Reize. Über die Art und Weise wie Stoffe in geringerer Konzentration auf Protozoen wirken, wissen wir so gut wie nichts.

Die zahlreichen Untersuchungen über den Einfluß verschiedenartigster Chemikalien auf Protisten lehren im allgemeinen nur die Höhe der tödlichen Konzentration. Bei der Feststellung dieses Wertes muß ganz besonderer Wert darauf gelegt werden, daß die Objekte völlig sauber, frei von Detritus und Bakterienballen zur Verwendung kommen, auch durch mehrfaches Reinigen mit destilliertem Wasser völlig frei von Kulturflüssigkeit sind.

Zur Prüfung der Wirkung empfiehlt es sich von Normallösungen (oder  $n/10$ ) ausgehend sich Verdünnungen nach einer geometrischen Reihe herzustellen. Barratt<sup>83</sup>) fand es bei *Paramaecium* zweckmäßig die Konzentration festzustellen, die in 10—30 Minuten tödlich wirkt, und es ergab sich, daß diese Konzentration für starke Säuren und Alkalien scharf definierbar war, indem bei der doppelten Konzentration der Tod sehr rasch, fast momentan eintrat, in der Konzentration von halber Stärke dagegen die Tiere stundenlang lebten. Die folgenden Tabellen zeigen hierfür einige Beispiele. (Siehe die nebenstehenden Tabellen.)

Nur in wenigen Fällen ist etwas anderes als die Dosis letalis von einem Stoff festgestellt, doch finden sich vielfach Beschreibungen der typischen generellen Reizwirkungen auf Cilien, Myoide und Systoletten, die erörtert wurden, mit dem Bestreben, diese Symptome als den Ausdruck spezifischer

Die für *Paramecium aurelia* tödlich wirkenden Konzentrationen von Säuren bei 13° C. nach Barratt. (Gekürzt.)

	0,0004 N	0,0002 N	0,0001 N	0,00005 N
HCl Salzsäure	tot innerhalb 1 Minute	tot nach 7 Minuten	tot nach 5 Stunden	
HNO <sub>3</sub> Salpetersäure	tot innerhalb 1 Minute	tot nach 15 Minuten	lebendig nach 24 Stunden	
H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> Schwefelsäure	tot innerhalb 1 Minute	tot nach 17 Minuten	lebendig nach 24 Stunden	
HCOOH Ameisensäure		tot innerhalb 2 Minuten	tot nach 15 Minuten	tot nach 5 Stunden
COOH · CHOH · CHOH · COOH Weinsäure		tot innerhalb 1 Minute	tot nach 12 Minuten	lebendig nach 24 Stunden

Die für *Paramecium aurelia* tödlich wirkenden Konzentrationen von Basen nach Barratt. (Gekürzt.)

	0,004 N	0,003 N	0,002 N	0,001 N	0,0005 N
KOH	tot nach 5 Minuten	tot nach 14 Minuten	tot nach 60 Minuten	lebendig nach 24 Stunden	
NaOH	tot nach 5 Minuten	tot nach 15 Minuten	tot nach 40 Minuten	lebendig nach 24 Stunden	
LiOH		tot nach 4 Minuten	tot nach 10 Minuten	tot nach 90 Minuten	lebendig nach 24 Stunden
½ Ba(OH) <sub>2</sub>			tot nach 5 Minuten	tot nach 30 Minuten	lebendig nach 24 Stunden

Wirkungen hinzustellen, ein Versuch, der oben bereits eine Kritik erfahren hat.

Als Indikator für die Wirkung nicht tödlicher Dosen eines Reizstoffes ist gelegentlich die Teilungsgeschwindigkeit benutzt worden. B. Sand<sup>84)</sup> stellte den Grad der Beschleunigung bzw. Verlangsamung für verschiedene Dosen von Arsen, Chinin, Eisen, Alkohol fest.

Methodisch am bedeutsamsten für die Bearbeitung der Frage, wie bestimmte Stoffe auf das Protoplasma einwirken, sind Barratts<sup>85)</sup> Untersuchungen über die Wirkung von Säuren und Alkalien, durch die er den Nachweis erbrachte, daß beide nicht katalytisch auf das Plasma wirken, sondern Verbindungen mit ihm eingehen, so daß Säure und Alkali in meßbaren Mengen aufgebraucht werden.

Die Methode zur Feststellung dieser Tatsache beruht auf dem Prinzip, daß die elektrische Leitfähigkeit einer Flüssigkeit von ihrer Ionenkonzentration abhängt, und daß, wenn die elektromotorische Kraft und der äußere

Widerstand konstant bleiben, wobei letzterer im Vergleich zu dem der Flüssigkeit vernachlässigt werden darf (z. B. 130 000 : 100 Ohm), jede Veränderung in der Ionenkonzentration sich durch eine proportionale Veränderung der Stromstärke kundgibt, so daß diese als ein Maß für die Ionenkonzentration gesetzt werden kann.

Zur Ausführung der Bestimmung benutzt man einen sehr einfachen Apparat, den Fig. 35 zeigt. Er besteht aus einem U-förmigen Glasrohr (C), das 2 Platinelektroden enthält. Am Boden von C befindet sich ein mittels Gummischlauch an den Trichter (T) angeschlossenes Verbindungsrohr. Durch Heben und Senken des Trichters wird das U-Rohr gefüllt oder entleert. Als Stromquelle dient zweckmäßig ein Akkumulator und im Stromkreis befindet sich noch ein Milliampèremeter (G) und ein Schlüssel (S).

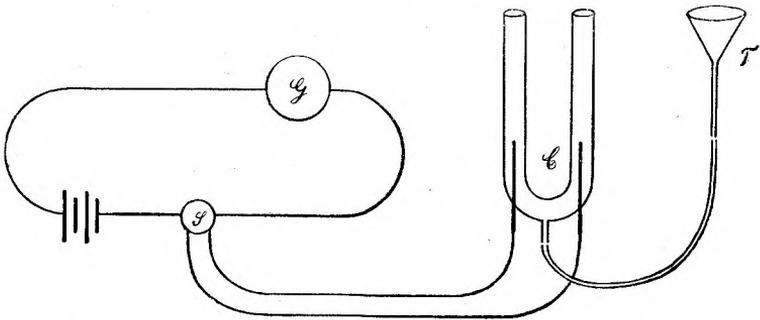


Fig. 35. Anordnung zur Bestimmung des Säuregehaltes einer Flüssigkeit nach Barratt. Erklärung im Text.

Zu beobachten ist der Ausschlag des Galvanometers bei Füllung des U-Rohres mit destilliertem Wasser, bei Füllung mit der verdünnten Säure oder Base und nach Zusatz der Paramaecien. Die Versuche geben eine deutliche Abnahme der Leitfähigkeit, also eine Verringerung des Galvanometerauschlages während der Wirkung der Stoffe auf die Paramaecien. Für Säuren und Basen, die sehr schwache Elektrolyte sind, ist die Methode nicht verwertbar. Einzelheiten der Ausführung und Berechnungen müssen im Original nachgesehen werden.

Ebenso in bezug auf einen zweiten Weg, die chemische Bindung zwischen Plasma und Säure (bezw. Alkali) nachzuweisen, der auf der Verwendung der Messung elektromotorischer Kräfte von Konzentrationsketten mit Wasserstoffelektroden beruht<sup>86</sup>).

Wichtig für das Experimentieren mit Protozoën ist die Kenntnis der Tatsache, daß für einige Formen bereits der Partialdruck des Sauerstoffs, wie er in der Luft herrscht, zu hoch ist, und schwere tödliche Schädigungen bewirkt. Besonders bei *Spirostomum* ist die Gefahr der Schädigung durch zu viel Sauerstoff erheblich und im offenen Uhrschälchen (in feuchter Kammer) sind die meisten Tiere im Laufe eines Tages abgestorben oder doch im Absterben. Setzt man sie dagegen unter eine Glasglocke, die mit gewöhnlichem Luftstickstoff (in Stahlflaschen im Handel) gefüllt wird, der 2—4 Proz. Sauerstoff enthält, so kann man die Tiere im Uhrschälchen

wochenlang normal halten<sup>87)</sup>. *Opalina* wird gleichfalls durch Luftsauerstoff geschädigt, und wahrscheinlich auch *Bursaria truncatella*.

Das Hauptinteresse beim Studium der chemischen Reizwirkungen haben bisher stets die Erscheinungen der Chemotaxis in Anspruch genommen. Die mancherlei Modifikationen, die vorgeschlagen sind, haben alle den Zweck, einen allmählichen Konzentrationsabfall zu schaffen, so daß in bestimmten Entfernungen von dem eingeführten Reizstoff Zonen gleicher Konzentration liegen.

Pfeffer<sup>88)</sup> füllte zu diesem Zweck einseitig zugeschmolzene Kapillaren mit dem Reizstoff und ließ diesen dann aus der Kapillarmündung in das umgebende Medium hineindiffundieren. Besteht eine positive Chemotaxis, so läßt sich das mit dieser Methode leicht nachweisen, indem sich die Organismen in der Röhre ansammeln.

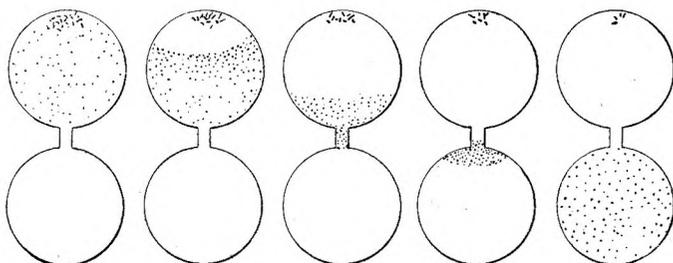


Fig. 36. Demonstration der negativen Chemotaxis von *Anophrys*.  
(Nach Massart aus Verwoorn.)

Massart demonstrierte die negative Chemotaxis (bei *Anophrys*) in der Weise, daß er in einen Tropfen, in dem die Tiere waren, einige Kochsalzkristalle brachte, und den Tropfen durch eine schmale Flüssigkeitsbrücke mit einem zweiten Tropfen reinen Wassers verband. Vor der stärker werdenden Salzlösung weichen die *Anophrys* negativ chemotaktisch zurück und schwimmen alle in den Tropfen reinen Wassers hintüber (s. Fig. 36).

Etwas anders verfährt Jennings<sup>89)</sup> zur Demonstration der Chemotaxis. Unter einem großen Deckglas, das durch Glasfäden unterstützt ist, wird die Flüssigkeit mit den Versuchstieren ausgebreitet und nun mit einer kapillar ausgezogenen Pipette ein Tropfen der Lösung, die auf ihre chemotaktische Wirksamkeit untersucht werden soll, unter das Deckglas gebracht. Besteht positive Chemotaxis, so sammeln sich die Tiere in dem Tropfen an (s. Fig. 37), bei negativer ziehen sie sich von ihm zurück. Besteht ein Konzentrationsoptimum für den Stoff, dem die Organismen von niederer (positiv) und höherer (negativ) Konzentration aus zustreben, so bildet sich die Ansammlung in verschiedener Entfernung von dem Reiztropfen, entweder direkt an seiner Grenze (Fig. 37, C und D) oder entfernt davon (Fig. 37, E).

Statt eines Tropfens kann natürlich auch eine Gasblase als Reizquelle dienen, z. B. eine Blase von Kohlensäure, gegen die für viele Infusorien bei schwächerer Konzentration eine stark positive Chemotaxis besteht, auf der zum Teil die dichten Gruppenbildungen mancher Formen beruhen. Bei stärkerer Konzentration tritt negative Chemotaxis ein.

Zur Demonstration dieses Konzentrationsoptimums bedarf es öfter gar keiner besonderen Maßnahmen; z. B. erkennt man bei Anophrys und Spirillen ohne weiteres dies Optimum für Sauerstoff, das für beide Formen verschieden hoch liegt, daran, daß sie sich von Luftblasen, oder von den Deckglasrand in bestimmten, für beide verschiedenen Entfernungen in dicht gedrängten Linien anordnen (s. Fig. 38).

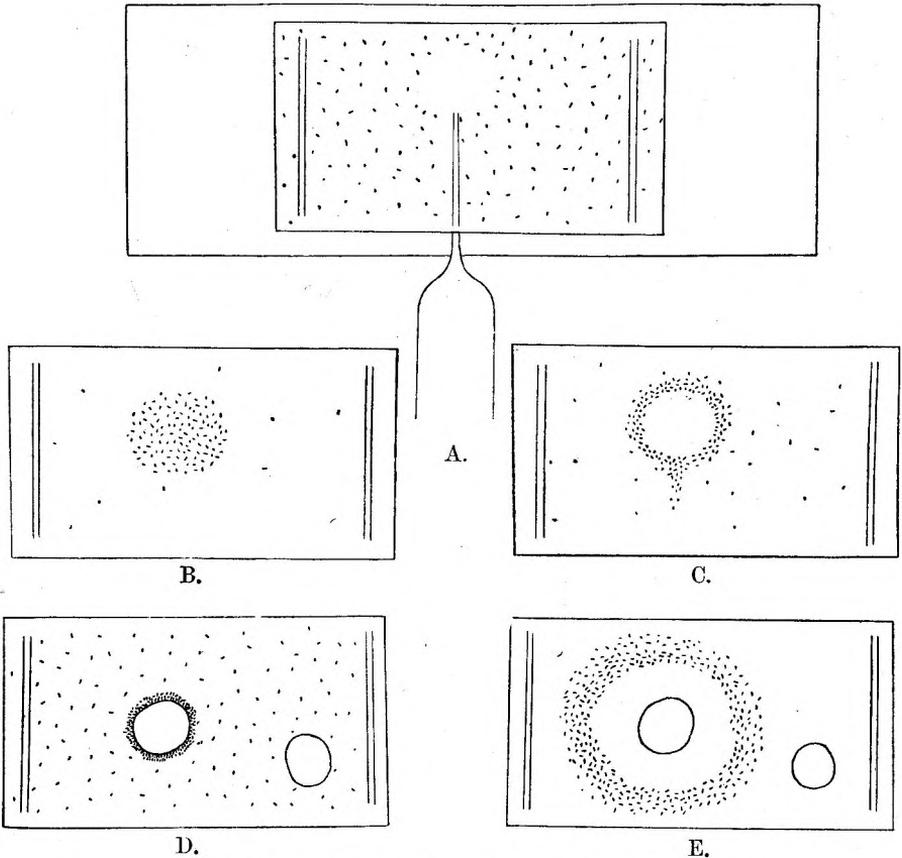


Fig. 37. Chemotaxis von *Paramecium aurelia*. (Nach Jennings.)

A. Einbringen des chemotaktisch wirksamen Tropfens unter das Deckglas mittels der Kapillarpipette. B. Positiv chemotaktische Anhäufung. C. Desgleichen bei zu hoher Konzentration der betreffenden Lösung. D. Eine Kohlensäure- und eine Luftblase unter dem Deckglase, erstere wirkt positiv chemotaktisch, letztere ist indifferent. E. Dasselbe Präparat etwas später: die Kohlensäure ist in das umgebende Wasser diffundiert und hat durch ihre zu hohe Konzentration die *Paramecien* vertrieben, bis dahin wo sie ihr Kohlensäureoptimum finden. (Nach Jennings aus Verworn, Allgemeine Physiologie.)

Während in allen diesen Versuchen als Indikator der Reizwirkung eine grob wahrnehmbare Massenanhäufung der Versuchstiere diente, hat sich Barratt<sup>90)</sup> bemüht, einen quantitativen Ausdruck für die Chemotaxis zu finden.

Seine Methode ist folgende: In ein Uherschälchen kommt 1 cem *paramecienhaltiger* Heuinfus, oder besser destilliertes Wasser, in welches enge

Röhrchen (0,8—2,3 mm weit) hineinragen, die mit den zu prüfenden Lösungen gefüllt sind. Zur Kontrolle werden stets Röhrchen mit Aqua dest. oder Heuinfus hinzugelegt. Nach 15 bis 30 Minuten werden die Röhrchen herausgenommen und die Zahl der eingedrungenen Tiere festgestellt, ebenso wie weit sie eingedrungen sind und wie viele etwa abgestorben sind.

Im allgemeinen wirken Alkalien stets negativ chemotaktisch von der Reizschwelle an, während verdünnte Säuren positiv chemotaktisch wirken und die Abstoßung erst bei höheren Konzentrationen erfolgt. Barratt faßt allerdings nach seinen Versuchen die positive Chemotaxis gegen schwache Säuren nur als eine scheinbare auf, als eine Phase negativer Chemotaxis.

4. Aktinische Reize. Die Reizwirkungen, die man durch strahlende Wärme erhalten kann, wurden schon erwähnt, hier soll die Methodik der Anwendung von Licht aus den verschiedenen Spektralteilen, Röntgenstrahlen ( $\gamma$ -Strahlen) und Radiumstrahlen ( $\alpha$ -,  $\beta$ - und  $\gamma$ -Strahlen) besprochen werden.



Fig. 38. Ansammlungen im Sauerstoffoptimum.

A. Am Deckglasrand, die äußere Ansammlung besteht aus Anophrys, die innere aus Spirillen.  
B. Um eine Luftblase. (Nach Massart aus Verworm.)

Die Wirkung des Lichtes auf die Kohlensäureassimilation durch Chromophylle soll nicht näher erörtert werden, sie läßt sich an Protophyten natürlich ebenso wie an höheren Pflanzen demonstrieren, und würde uns zu weit in das Gebiet der Pflanzenphysiologie hineinführen.

Nur die Bakterienmethode Engelmans<sup>88)</sup> zur Demonstration der Sauerstoffproduktion einzelliger Algen mag erwähnt werden. Engelmans fand, daß eine Reihe von Bakterien eine starke positive Chemotaxis gegen Sauerstoff haben und durch Verwendung dieser Eigenschaft gelang ihm der Nachweis geringster Spuren von Sauerstoff. Die Methode gestattet auch die Untersuchung der assimilatorischen Wirkung von Strahlen verschiedener Wellenlänge unter dem Mikroskop.

Unter den chlorophyllfreien Protisten ist die Zahl derer, die schon bei gewöhnlichen Lichtintensitäten ihre Lichtreizbarkeit zeigen, sehr gering. Als solche Objekte sind zu nennen: *Pelomyxa palustris* (s. Fig. 1), *Pleuronema chrysalis* (s. Fig. 39), einige Schwärmer von Chitridiaceen und eine Bodoart.<sup>89)</sup>

Bei den beiden erstgenannten Formen genügt es, die Tiere im auffallenden Licht im Mikroskop einzustellen und dann mit dem Spiegel einen Lichtblitz auf sie zu werfen, worauf in beiden Fällen eine kontraktorische Erregung erfolgt, die bei *Pelomyxa* in einer Abkugelung des kriechenden Tieres, bei *Pleuronema* in einem lebhaften Schlag der Sprungwimpern besteht. Einschaltung von Eis- oder Alaunplatten in den Gang der Strahlen

ändert nichts am Reizerfolg (keine Wärmewirkung), während nach Absorption der aktinisch wirksamen Strahlen (Jod in Schwefelkohlenstoff) die Wirkung ausbleibt. Die Zeit der latenten Reizung beträgt bei *Pleuronema* 1—2 Sekunden.

Da die Lichtreizbarkeit als eine allgemeine Eigenschaft der lebendigen Substanz vermutet werden darf, so lag es nahe anzunehmen, daß die negativen Erfolge wesentlich durch Anwendung zu geringer Lichtintensitäten veranlaßt seien, und in der Tat haben Hertels<sup>90)</sup> Untersuchungen von

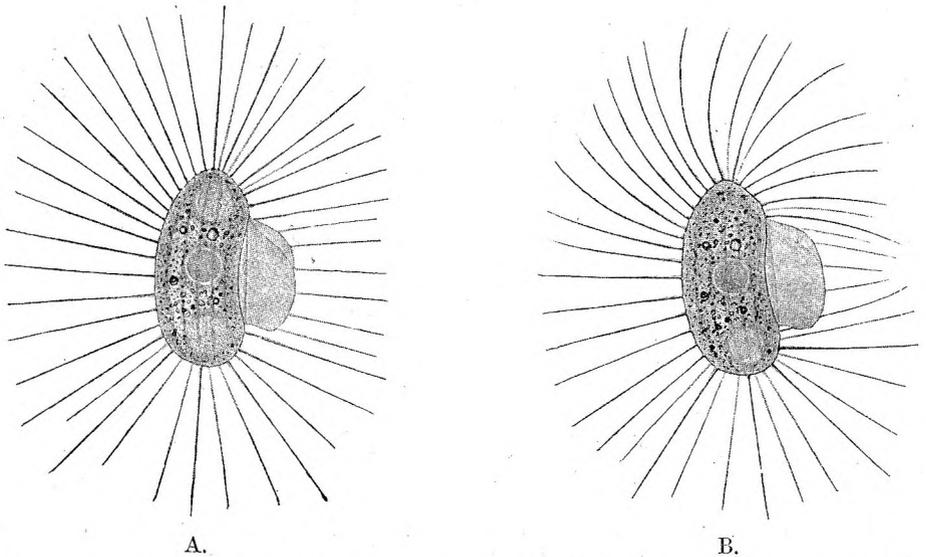


Fig. 39. *Pleuronema chrysalis*. A. Stilliegend. B. Im Begriff einen Sprung auszuführen. Die Wimpfern sind im Schlage begriffen. (Nach Verworn, Allgemeine Physiologie.)

*Paramecium*, das für gewöhnlich für nicht reizbar durch Licht gilt, starke Wirkungen gezeigt.

Als Lichtart wurde die Linie 280  $\mu\mu$  des Magnesiumspektrums gewählt (also eine ultraviolette Linie), wobei natürlich Quarzprismen und Quarzlinsen (am Kondensator) zur Verwendung kommen müssen. Die Untersuchung erfolgt im ausgeschliffenen Objektträger: in einen Objektträger wird eine kreisrunde Öffnung geschliffen und deren Unterseite mit einer dünnen Quarzplatte bedeckt.

Bei *Paramecium* hat Bestrahlung mit der genannten Lichtart eine starke Erregung zur Folge, und bei einiger Dauer erfolgte Lähmung und Tod. Das Aufhören der Bewegung tritt bei 10—15 Sekunden langer Bestrahlung ein.

*Stentor* stirbt gleichfalls unter maximaler Kontraktion seiner Myoneme in kaum einer Minute ab, ebenso erzielt man bei *Carchesium* und *Epistylis* starke Reizwirkungen.

Bei zunehmender Wellenlänge nimmt die Wirkung der Strahlen auf die Protisten rasch ab. Bei der Vergleichung des Effektes von Linien ver-

schiedener Spektralteile ist besonders Wert darauf zu legen, daß die Intensität der untersuchten Linien dieselbe, oder jedenfalls eine bekannte ist, was durch thermoelektrische Messung der Gesamtenergie der Strahlung zu kontrollieren ist, wie Hertel<sup>91)</sup> sie durchgeführt hat.

So tötet z. B. die gleiche Gesamtstrahlungsintensität bei einer Wellenlänge von 280  $\mu\mu$  (Ultraviolett) die Paramaecien fast momentan, bei 440  $\mu\mu$  (Indigo) in 2—4 Stunden, bei 558  $\mu\mu$  (Gelb) nach 6 Stunden.

Für die Einzelheiten der Versuchsanordnung und die Messungsmethoden muß auf Hertels mustergültige Arbeiten verwiesen werden.

Von weiteren Strahlengattungen ist die Wirkung des Gemisches der  $\alpha$ -,  $\beta$ - und  $\gamma$ -Strahlen untersucht, die Radiumpräparate aussenden. Als Objektträger dient dabei eine ganz dünne Glimmerplatte (4  $\mu$  dick) und das Radiumpräparat wird möglichst nahe an die Objekte gebracht, indem man es auf die Beleuchtungsvorrichtung des Mikroskops legt. Der Erfolg besteht in einer Abtötung der Protisten (Zuelzer<sup>92)</sup>).

Schaudinn<sup>93)</sup> fand gleichfalls eine tödliche Wirkung bei Anwendung von reinen  $\gamma$ -Strahlen (Röntgenstrahlen). Die Technik bietet nichts besonderes.

Für die Theorie der Wirkung des Lichtes auf die lebendige Substanz ist von besonderem Interesse die Möglichkeit, durch Zusatz bestimmter Stoffe die Lichtwirkung außerordentlich zu erhöhen. Die Wirkung der strahlenden Energie ist ja vor allem abhängig von dem Absorptionsvermögen des durchstrahlten Systems und so ist zu erwarten, daß Stoffe, die dieses aktinische Absorptionsvermögen steigern, auch die Wirkung des Lichtes erhöhen. Tappeiner und Raab haben eine Reihe derartiger Stoffe beschrieben, nach deren Zusatz sie bei Paramaecium, das sonst durch Tageslicht nicht beeinflußt wird, starke Lichtwirkungen beobachteten.

Hertel, der mit spektralem Licht arbeitend, diese Verhältnisse prüfte, benutzt eine neutrale Eosinlösung von 1:1200, die einen Absorptionsstreifen von 535—470  $\mu\mu$  hat, und eine Erythrosinlösung 1:6000 mit Absorptionsstreifen von 427—485  $\mu\mu$ .

Die Wirkung des Lichtes auf die Paramaecien war nun nur innerhalb der Wellenlänge des Absorptionsstreifens sehr stark erhöht. So tötete Licht von 518  $\mu\mu$  in 2—3 Minuten bei Gegenwart der Sensibilisatoren, während ohne sie in einer Viertelstunde noch keine Wirkung sichtbar wurde. Außerhalb der Absorptionsstreifen, bei 448  $\mu\mu$  war mit und ohne Zusatz der Farbstoffe kein Erfolg nach 15 Minuten zu sehen.

Entsprechend der geringen Wirkung, die das Licht gewöhnlicher Zusammensetzung auf die meisten chlorophyllosen Protisten ausübt, finden sich bei ihnen nur höchst selten phototaktische Erscheinungen, die bei den grünen Protisten dagegen äußerst verbreitet sind. Besonders Euglena und Volvox sind beliebte Objekte beim Studium dieser Phänomene gewesen.

Der methodische Schwerpunkt bei Untersuchungen über Lichtwendigkeit liegt auf der Herstellung einer genau bekannten Verteilung der Lichtintensität. Wäre diesem Punkt, der auch heute noch oft genug vernachlässigt wird, stets genügend Rechnung getragen, so wäre viel überflüssige Arbeit erspart worden.

Die Intensitätsverteilung des Lichtes in einem hängenden Tropfen, der

durch den Mikroskopspiegel beleuchtet wird, in einem zylindrischen Gefäß, das sein Licht vom Fenster erhält, ist so verwickelt, daß derartige Anordnungen als absolut ungeeignet zum Studium phototaktischer Bewegungen angesehen werden müssen.

Erfordernis für ein Gefäß, in dem phototaktische Versuche gemacht werden sollen, ist, daß seine Wände planparallel sind und kein Licht reflektieren. Die Lichtstrahlen müssen durch geeignete Linsensysteme parallel gemacht werden. Auf diese Weise erhält man einen Raum, in dem ein gleichmäßiger Abfall der Lichtintensität in der Richtung des Lichtstrahlenganges erfolgt.

Es macht sich nun bei der Interpretation phototaktischer Bewegungen immer wieder die Tendenz geltend, die „Richtung“ als das bei der Orientierung Wirksame hinzustellen, anstatt der Intensitätsabnahme. Durch eine einfache Anordnung hat Oltmanns<sup>94)</sup> die „Richtung“ der Lichtstrahlen

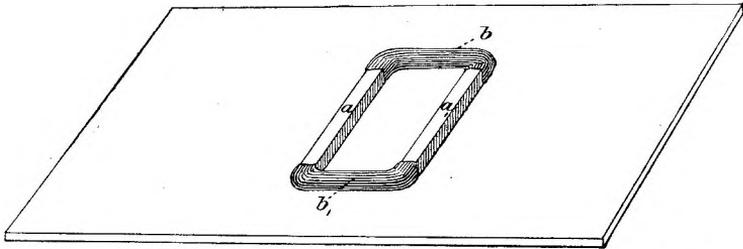


Fig. 40. Tonleistenkästchen zur galvanischen Reizung von Paramaecium.  
(Nach Verworn, Allgemeine Physiologie.)

vom Intensitätsabfall getrennt, indem er vor das Gefäß, das die Objekte enthielt, einen Keil aus Glasplatten setzt, der eine Tuscheaufschwämmung in Gelatine enthält. Dieser Keil (ca. 20° Winkel) läßt an seinem dünnen Ende nahezu alles Licht durch, an seinem dicken Ende sehr viel weniger. Fällt also das Licht senkrecht auf die Keilplatte, so liegt hinter dem Keil der Intensitätsabfall senkrecht zur Einfallsrichtung des Lichts, allerdings erfolgt in der Richtung der Lichtstrahlen ja auch ein geringerer Intensitätsabfall, was man dadurch vermeiden könnte, daß man beide Seiten mit derartigen Keilen versieht und mit gleichen Lichtquellen beleuchtet.

5. Elektrische Reize. Wegen seiner feinen Abstufbarkeit und genauen Dosierbarkeit erfreut sich der elektrische Reiz in seinen verschiedenen Formen größter Beliebtheit in der Physiologie und auch für die Protisten ist er vielfach benutzt worden.

Über Stromquellen, Meßinstrumente, Widerstände ist nichts besonderes zu sagen, nur die Form der Elektroden und die Gefäße, in die die Protozoen zwecks Reizung gebracht werden, sollen beschrieben werden.

Die unpolarisierbaren Elektroden, die für konstante Ströme gebraucht werden, können genau dieselbe Form erhalten, wie sie sonst allgemein üblich sind (Pinselelektroden), nur darf man die Pinsel nicht mit physiologischer Kochsalzlösung durchtränken, sondern mit der Flüssigkeit, mit der die Tiere untersucht werden sollen. Statt der Pinsel verwandte Verworn auch Elektroden mit Spitzen aus gebranntem Ton (s. Fig. 41). Statkewitsch<sup>95)</sup> be-

nutzt statt der Pinsel Baumwollfäden, die aber bei Verwendung von Medien, die nicht durch Zusatz schleimiger Stoffe dickflüssig gemacht sind (s. o.), leicht den Tropfen kapillar anziehen. Der Vorteil dieser Elektroden besteht darin, daß in dünner Schicht, also bei starker Vergrößerung, unter dem Deckglas beobachtet werden kann.

Die bei weitem einfachste und für die meisten Fälle ausreichende Methode ist die Reizung im Verwornschen Tonleistenkästchen (Fig. 40). Auf einen Objektträger werden 2 parallele Leisten von porösem Ton (wie

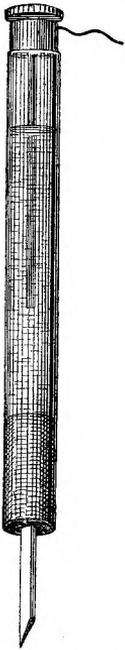


Fig. 41. Unpolarisierbare Elektrode mit Spitze von gebranntem Ton.  
(Nach Verworn, Allgemeine Physiologie.)

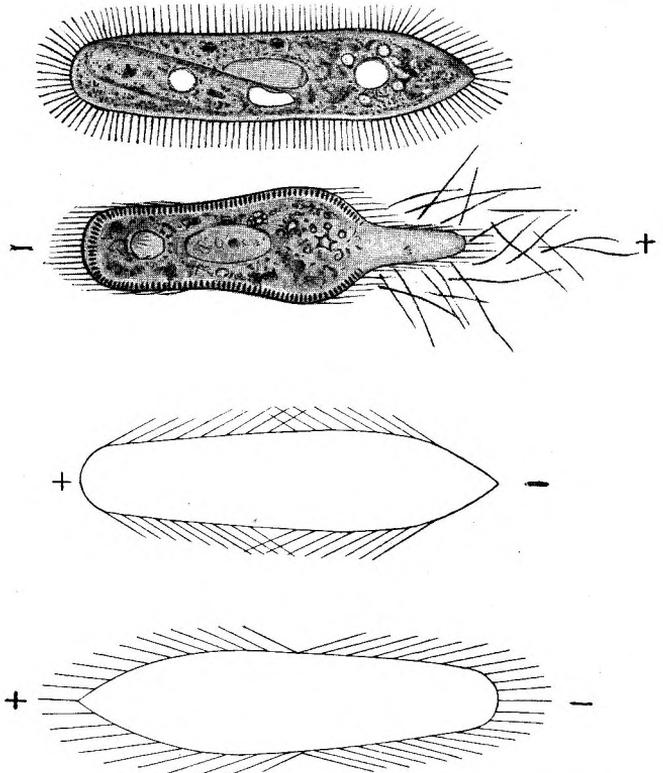


Fig. 42. Wirkung der polaren Erregung auf Paramecium.  
(Nach Ludloff aus Verworn, Allgemeine Physiologie.)

er bei den Tonzellen der galvanischen Elemente benutzt wird) aufgekittet und ihre Enden durch kleine Wälle eines isolierenden Kittes (Kolophonium und Wachs) verbunden. An die Tonleisten werden die Pinsel angelegt. Den Erfolg der Reizung am einzelnen Tiere zeigt Fig. 42, die makroskopisch sichtbare Anhäufung der Tiere an der Kathode Fig. 43. Um zu zeigen, wie die Paramecien in ihrer Schwimmrichtung den Kraftlinien des elektrischen Stromes folgen, stellt man den Versuch im Uhrschildchen an, und taucht an zwei beliebigen Stellen die Spitzen der Pinsel oder die Tonspitzen der Elektroden in die Flüssigkeit. Bei Verwendung einzelner Induktionsschläge als Reiz kann man Platinelektroden benutzen und hier empfiehlt sich die An-

ordnung, die Roesle<sup>96</sup>) beschreibt. Auf einen größeren Objektträger wird ein Hartgummiring aufgeklebt, der das Behältnis für die Versuchsobjekte darstellt (s. Fig. 44). Um ihn wird ein zweiter dünnerer, ihn etwas überragender Ring angelegt, der sich gerade um den ersten drehen läßt. Der drehbare Ring trägt zwei feine Klemmen, die einander genau gegenüberstehen. An diese wird je ein dünnes, in der Mitte längs durchschlitztes Metallstück so angebracht, daß es sich etwas verschieben läßt. An den Metallstücken befinden sich die als Elektroden dienenden Platindrähte, die infolge ihrer Verschieblichkeit in stets gleichem Abstand voneinander eingestellt werden können. Durch die Drehung des äußeren Ringes ist es mög-

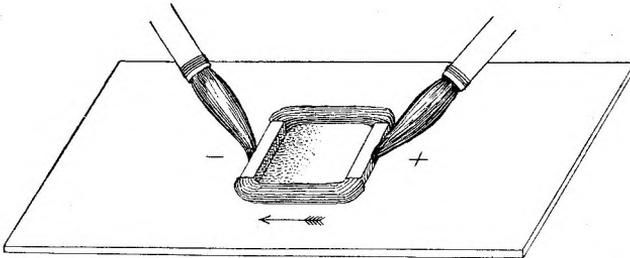


Fig. 43. Negative Galvanotaxis von *Paramecium* bei makroskopischer Betrachtung. (Nach Verworn, Allgemeine Physiologie.)

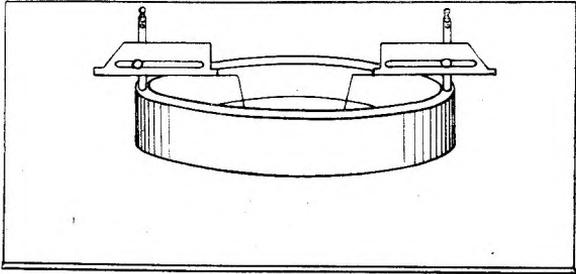


Fig. 44. Reizkästchen für Reizung von Protozoen mit einzelnen Induktionsschlägen. (Nach Roesle.)

lich, die Elektroden in jede beliebige Lage zur Körperachse der Versuchsobjekte zu bringen und so den Reizeffekt bei Längs- und Querdurchströmung zu studieren.

Beim Studium galvanotaktischer Erscheinungen verwendet Birukoff bei längerer Einwirkung des Induktionsstroms verschieden gestaltete Metallelektroden. Wegen des raschen Auftretens von Polarisationsprodukten, die die Tiere schädigen, kann diese Methode nicht empfohlen werden.

Was die Stromstärken anlangt, mit denen man zweckmäßig arbeitet, so findet bei *Paramecien*, die in Kulturflüssigkeit untersucht werden, eine Galvanotaxis zur Kathode statt, wenn die Stromstärke etwa 0,06 M. A. beträgt. In destilliertem Wasser ist die Erregbarkeit viel höher, und schon Ströme von 0,016 M. A. bewirken Hinschwimmen zur Kathode, wie Wallengren<sup>97</sup>) gezeigt hat.

## 7. Die Lebensbedingungen.

Die Methoden zur Feststellung der äußeren Lebensbedingungen bieten nichts besonderes. Bei der Ermittlung der Lebensgrenzen z. B. in bezug auf Temperatur, Druck, Nahrung, Sauerstoff, Zusammensetzung des Mediums kommen dieselben Anordnungen zur Verwendung, wie sie bei der Methodik der Reizversuche erörtert wurden.

Es sollen hier wesentlich die Mittel erwähnt werden, die zum Studium der inneren Lebensbedingungen geeignet sind.

Eine fundamentale Bedingung für den dauernden Bestand des Lebens eines Einzelligen wie jeder Zelle ist das Zusammenwirken von Kern und Plasma. Gerade bei Protisten ist es experimentell leicht möglich, diese Bedingungen festzustellen und zwar durch Operationen an der Zelle, wie sie bei Vielzelligen meist nicht möglich sind. Durch Zerschneidungsversuche unter dem Mikroskop ist es bei manchen Formen nicht besonders schwer, kernlose und kernhaltige Teilstücke zu erhalten.

Das Instrument zu dieser Mikrooperation stellt man sich nach Verworn's Angaben aus einer Nadel her, die zu einer möglichst feinen Schneide geschliffen wird. Solche Zerschneidungen haben von Amöben kernlose Teilstücke geliefert, die noch einige Zeit hindurch Bewegungen zeigen, dann aber zugrunde gehen.

Für die Frage, ob der Kern ein regulatorisches Zentrum für die Bewegung ist, oder wenigstens etwas mit der Koordination der oft ganz verschiedenartigen Bewegungsformen der einzelnen Ciliengruppen zu tun hat, benutzte Verworn *Lacrimaria olor*, von dem sich die verschiedensten Teilstücke mit und ohne Kern gewinnen lassen, die nach der Operation genau die gleichen typischen Bewegungen zeigen wie vorher (s. Fig. 45).

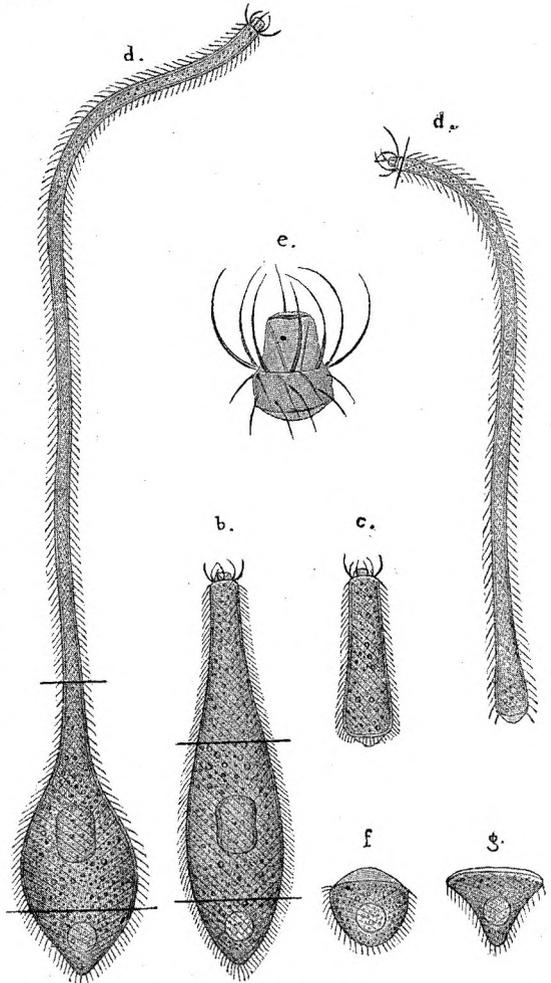


Fig. 45. *Lacrimaria olor* unter dem Mikroskop in einzelne Teilstücke zerlegt. (Nach Verworn, Allgemeine Physiologie.)

Für die Frage, ob der Zellkern ein Oxydationszentrum sei, ob er besondere Beziehungen zur Zellatmung habe, wie Loeb meint, verwandte Verworn *Spirostomum* und zeigte, daß kernhaltige und kernlose Teilstücke in ganz gleicher Weise durch Sauerstoffentziehung geschädigt werden, sich auch in ganz gleicher Weise wieder erholen.

Auch die interessante Frage, ob ein Kern ohne Plasma lebensfähig sei, läßt sich an Protisten experimentell beantworten, indem die großen Radiolarien, z. B. *Thalassicolla* (s. Fig. 46), nicht nur Kerne erheblicher Größe bieten, sondern auch deren glatte Entfernung aus der Zentralkapsel leicht gestatten. Solche plasmalosen Kerne gehen ebenso sicher zugrunde, wie kernlose Plasmastücke.

Ist einer Zelle ein Teil ihres Plasmas genommen, so regeneriert sie das verlorene und es stellt sich unter gleichbleibenden Verhältnissen wieder dieselbe Proportion zwischen Kernmasse und Plasmamenge oder wohl richtiger zwischen Kernoberfläche und Zellvolum (oder Zelloberfläche) ein, die Kernplasmakorrelation R Hertwigs.

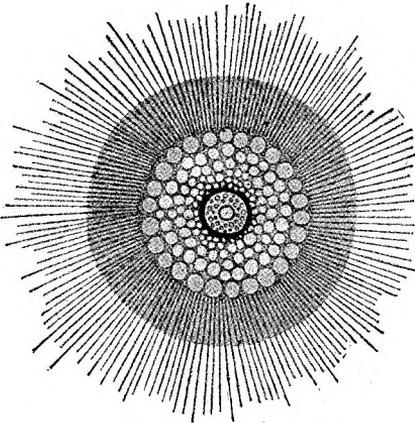


Fig. 46. *Thalassicolla nucleata*.  
(Nach Verworn, Allgemeine Physiologie.)

Eine experimentelle Veränderung dieser Proportion hat tiefgreifende physiologische Veränderungen zur Folge, oder wenn wir vorsichtiger sein wollen, so können wir sagen, daß die Veränderung der Kernplasmakorrelation für uns ein Indikator ist, daß tiefgehende physiologische Veränderungen in den Zellen stattgefunden haben.

Experimentell herstellbar ist eine Veränderung der Kernplasmakorrelation auf verschiedene Weise.

R. Hertwig<sup>98)</sup> züchtete Aktinosphären monatelang bei überreicher Ernährung (durch *Stentor coeruleus*) und erzielte dadurch eine gewaltige Zunahme der Kernmasse im Vergleich zum Plasma. Lange Zeit hindurch bleibt dieser Zustand nicht bestehen, die großen Kerne werden ausgestoßen und die kernlosen Reste gehen zugrunde. Auch durch Züchtung bei niedrigerer Temperatur ist eine Vermehrung der Kernmasse zu erzielen, während hohe Temperaturen zu ihrer relativen Verminderung führen.<sup>99)</sup> Als Temperaturen wurden für *Actiosphaerium* 25° und 8° C. gewählt.

Auf eine ganz andere Weise erreichte Gerassimow<sup>100)</sup> eine Veränderung des Verhältnisses von Kern und Plasma. Läßt man auf *Spirogyra* niedere Temperaturen einwirken, so erhält man Teilungsabnormitäten, indem die beiden Kerne in dem einen Teilstück des Zellkörpers bleiben, und außerdem ein kernloses Teilstück entsteht. Die Fäden wurden eine Nacht bei 2° gehalten.

Die Einsicht, daß die Veränderungen, die zur Bildung ungeschlechtlicher oder geschlechtlicher Fortpflanzungsstadien führen, in strenger Weise von den physiologischen Bedingungen abhängen, denen ein Organismus unter-

worfen ist, hat Klebs<sup>101)</sup> in fundamentalen Versuchen zuerst an Protisten entwickelt. Seine Objekte aus diesem Stamme waren durchweg Algen, bei denen es durch Variieren der Ernährung, des Salzgehaltes des Kulturmediums, der Belichtung und Temperatur gelang, willkürlich entweder das vegetative Wachstum beliebig lange zu erhalten, oder ungeschlechtliche Sporenbildung, oder Bildung von Geschlechtsprodukten zu veranlassen.

In bezug auf die Technik der Durchführung dieser ungemein wichtigen Versuche muß auf die zahlreichen Erfahrungen verwiesen werden, die in dem zitierten Werke niedergelegt sind.

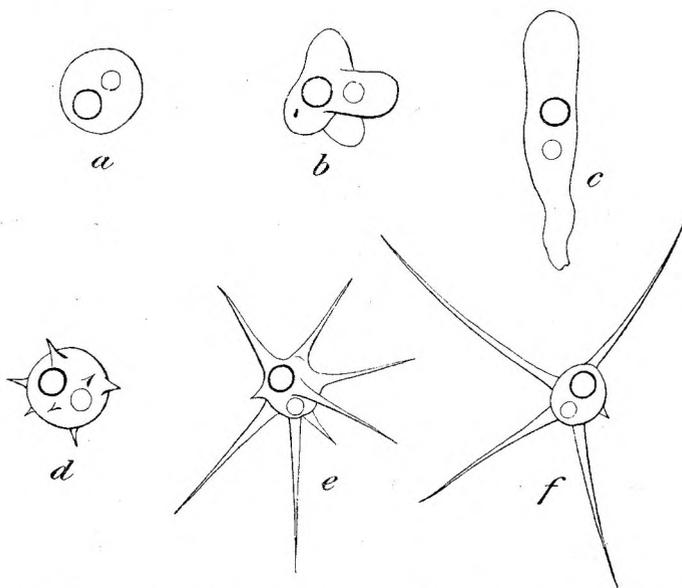


Fig. 47. *Amoeba limax*. a. Kontrahiert. b. Im Beginn der Pseudopodienbildung (Proteus-Form). c. Gewöhnliche *Limax*-Form. d, e, f. Formen nach Zusatz von Kalilauge; d. im Beginn der Einwirkung; e, f. *radiosa* Formen. (Nach Verworn, Allgemeine Physiologie.)

Für Protozoen sind wir in dieser Frage noch sehr zurück, es liegen nur gelegentliche Beobachtungen vor, aus denen hervorgeht, daß auch hier, wie bei Protophyten, das Auftreten bestimmter Entwicklungsstadien streng an bestimmte äußere Bedingungen geknüpft ist.

Daß eine Spezies in ihren charakteristischen Formmerkmalen nur unter konstanten Außenbedingungen beständig ist, läßt sich wohl nirgends so einfach zeigen, wie bei *Amöba limax*. Verworn (s. Fig. 47) zeigte, daß ein geringer Zusatz von Kalilauge zu der Kulturflüssigkeit genügt, um aus der plumpen *Limax*-Form, mit ihren lappigen, breiten, schnell beweglichen Pseudopodien eine Form hervorgehen zu lassen, die von der systematisch scharf unterschiedenen *Amöba radiosa* nicht zu unterscheiden ist und sich der *Amöba limax* gegenüber durch lange, dünne Pseudopodien und große Trägheit der Bewegung auszeichnet.

### Versuche für Vorlesung und Praktikum.

Es ist nur eine recht geringe Anzahl von Lebensvorgängen der Protisten, die sich leicht einem größeren Auditorium demonstrieren läßt, und fast noch geringer ist die Zahl der Versuche, die sich für praktische Übungen mit Anfängern eignen, wenn man konsequent an der Forderung festhält, daß im Praktikum der Student selbst den ganzen Versuch ausführen und nicht bloß zusehen soll, wie der Dozent ihn ausführt.

Leicht anzustellen mit einer einigermaßen reichen Paramaecienkultur ist die Biuretprobe. Bei Zusatz der Lauge lösen sich die Leiber restlos, und deutlich tritt die violette Farbe auf.

Recht dankbar zur mikroskopischen Demonstration (eventuell Projektion)

ist der Nachweis der Reaktion in den Nahrungsvakuolen und ihre Änderung infolge Sekretion verdünnter Mineralsäuren, der durch die Färbung mit Kongorot und den Farbenumschlag in blau erbracht wird und bei gut-genährten Tieren, die reichlich rot und blau gefärbte Nahrungsvakuolen enthalten, ein schönes Bild gibt.

Steht Spirostomum zur Verfügung, so kann bei geringer Zahl der Zuschauer der Erstickungsversuch und die Erholung im hängenden Tropfen auf der Gaskammer als Demonstrationsversuch empfohlen werden, da in 3—4 Minuten die Lähmung und noch rascher die Erholung eintritt.

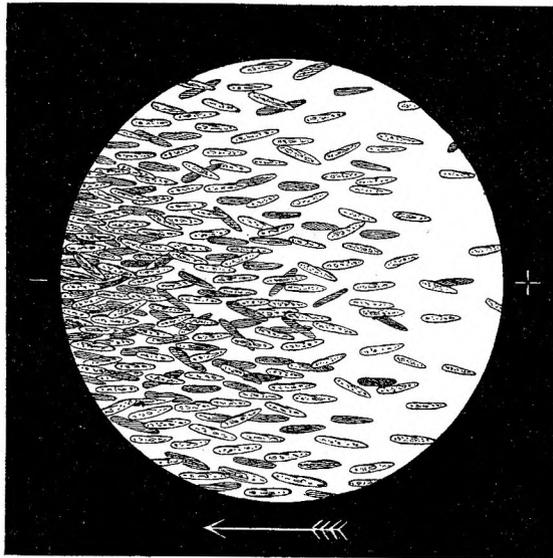


Fig. 48. Negative Galvanotaxis von Paramaecium im mikroskopischen Bilde bzw. im Projektionsbilde.

Der Versuch über die erregende und lähmende Wirkung der Temperatur ist in der Form, in der Verworn<sup>102)</sup> ihn in seinem Physiologischen Praktikum beschreibt, und in der er im hiesigen Institut geübt wird, sehr bequem in den praktischen Übungen von Studenten ausführbar. Die Anordnung ist oben beschrieben.

Die reichste Ausbeute an Demonstrationsversuchen liefern die taktischen Reizerscheinungen.

Die Geotaxis wird in Röhren von ca. 1 cm Weite und 1 bis 1,5 cm Länge demonstriert. Um eine schöne Ansammlung zu erhalten genügt es etwa 4—6 Stunden vor der Demonstration die Röhre zu füllen und zwar etwa  $\frac{1}{3}$  mit reichlich paramaecienhaltiger Flüssigkeit,  $\frac{2}{3}$  mit Leitungswasser, das nicht scharf überschichtet sein darf.

Die Chemotaxis läßt sich mit Jennings Anordnung gut zeigen (s. o.).

Zur Vorführung der *Thermotaxis* ist Mendelsohns (s. o.) Einrichtung zu verwenden.

Die Krone der Demonstrationsversuche mit Protisten wird wohl stets der Galvanotaxisversuch an rasch schwimmenden Formen: *Paramecium*, *Colpidium*, bleiben, der sich auch sehr gut zur Vorführung im Projektionsapparat eignet (s. Fig. 48), wenn für genügende Kühlung gesorgt wird. Verwendet wird das Verwornsche Reizkästchen und Pinsel, oder Tonerktroden.

### Literatur.

- 1) Oltmanns, Morphologie und Biologie der Algen. Jena, Bd. I. 1904. Es sind die Flagellaten fortgelassen, und bei den Protozoën aufgeführt.
- 2) Doflein, Das System der Protozoën. Archiv f. Protistenkunde. Bd. I. 1902, S. 169—192.
- 3) O. Bütschli, Protozoa in Bronns Klassen und Ordnungen des Tierreichs. Bd. I. 1870/89.
- 4) A. Lang, Lehrbuch der vergleichenden Anatomie. II. Aufl. Teil 1.
- 5) Blochmann, Die mikroskopische Tierwelt des Süßwassers. Braunschweig 1886.
- 6) Metz, Mikroskopische Wasseranalyse. Berlin, (J. Springer) 1898.
- 7) Rhumbler, Systematische Zusammenstellung der rezenten *Reticulosa*. Arch. f. Protistenkunde. Bd. 3. 1903. S. 181—294.
- 8) Brandt, Koloniebildende Radiolarien; in: Fauna und Flora des Golfes von Neapel.
- 9) Haeckel, Radiolaria. Challenger Report.
- 10) Schaudinn, Heliozoa. „Das Tierreich“. Lief. 1.
- 11) Stein, Der Organismus der Infusionstiere. Leipzig 1867.
- 12) Oltmanns, Morphologie und Biologie der Algen. Jena, Bd. 1. 1904. Bd. 2. 1905.
- 13) Angaben über Fang und Erhaltung von Algen gibt Oltmanns, Morphologie und Biologie der Algen. Bd. II. S. 377 ff.
- 14) N. Calkins, Studies on the life history of Protozoa. III. Biological Bulletin of the Marine biological Laboratory. Woods. Hall. Mar. Vol. III. 1902. S. 192—205.
- 15) P. Statkewitsch, Zur Methodik der biologischen Untersuchungen über die Protisten. Archiv f. Protistenkunde. Bd. 5. 1904. S. 17—39.
- 16) W. Peters, Metabolism and Division in Protozoa: Contributions from zool. Laboratory of Museum of comp. Zool. of Harvard College. Vol. 39. 1904. S. 441—516.
- 17) Beijerinck, Botan. Zeitung. 1890. S. 725.
- 18) Tischutkin, Über Agar-Agarkulturen einiger Algen und Amöben. Zentralbl. f. Bakteriol. Abtl. II. Bd. 3. 1897. S. 183—188.
- 19) Richter, Reinkultur von Diatomeen. Ber. d. deutsch. bot. Ges. Bd. 21. 1903. S. 493—506.
- 20) Hans Zumstein, Zur Morphologie und Physiologie der *Euglena gracilis* Klebs. Jahrb. f. wiss. Botan. Bd. 34. 1900. S. 149—198.
- 21) M. W. Beyerinck, Kulturversuche mit Amöben auf festem Substrate. Zentralbl. f. Bakteriol. Abtl. I. Bd. 19. 1896. S. 257—267.
- 22) — Über oligonitrophile Mikroben. Zentralbl. f. Bakteriol. Abtl. II. Bd. 7. 1901. S. 561—582.
- 23) H. Zaubitzer, Studien über eine dem Strohinfus entnommene Amöbe. Archiv f. Hygiene. Bd. 40. S. 103—141; s. hier auch Literatur über Amöbenzüchtung.
- 24) E. Gottstein, Über Züchtung von Amöben auf festen Nährböden. Hygienische Rundschau. Bd. 13. 1903. S. 593—596.
- 25) Henri Mouton, Recherches sur la digestion chez les amöbes. Ann. d. Inst. Pasteur. Ann. 16. 1902. S. 457—509.
- 26) Tsujitani, Über eine Methode die Infusorien rein zu kultivieren. Mittell. d. Tigerstedt, Handb. d. phys. Methodik I, 2.

med. Ges. zu Tokio. Bd. 18. 1904 (japanisch). Referat im Zentralbl. f. Bakteriol. I. Bd. 36. 1905. S. 514.

27) Erich Vahlkampf, Beiträge zur Biologie und Entwicklungsgeschichte von *Amoeba limax* einschließlich der Züchtung auf künstlichen Nährböden. Arch. f. Protistenkunde. Bd. 5. 1905. S. 167—220.

28) P. Jensen, Die absolute Kraft einer Flimmerzelle. Pflügers Arch. Bd. 54. 1893. S. 537—551.

29) Schaudinn, Ein Mikroaquarium. Zeitschr. f. Mikroskopie u. mikrosk. Technik. Bd. 11. 1894. S. 326—329.

30) Jensen, Über den Geotropismus niederer Organismen. Pflüg. Arch. Bd. 53. 1893. S. 428—480.

31) Ludloff, Untersuchungen üb. den Galvanotropismus. Pflügers Arch. Bd. 59. 1895.

32) Paul Statkewitsch, Zur Methodik der biologischen Untersuchungen über die Protisten. Arch. f. Protistenkunde. Bd. 5. 1905. S. 17—39.

33) Nierenstein, Beiträge zur Ernährungsphysiologie der Protisten. Zeitschr. f. allg. Physiol. Bd. 5. 1905. S. 435—510.

34) S. Prowazek, Vitalfärbungen mit Neutralrot an Protozoën. Z. f. wiss. Zool. Bd. 63. 1898. S. 187—194, Taf. 9.

35) Vladislav Ruzicka, Zur Theorie der vitalen Färbung. Z. f. Mikrosk. u. mik. Technik. Bd. 22. 1905/06. S. 91—98.

36) Rhumler, Der Aggregatzustand und die physikalische Beschaffenheit des lebenden Zellinhaltes. I. II. Z. f. allgem. Physiol. Bd. 1 u. 2.

37) Vernon, The respiratory exchange of the lower marine Invertebrates. Journ. of Physiol. Vol. 19. 1895/96. S. 18—70.

38) Reinke u. Rodewald, Die chemische Zusammensetzung des Protoplasma von *Aethalium septicum*. Untersuch. a. d. botan. Labor. der Univ. Göttingen. 1881.

39) H. Lohmann, Arch. f. Protistenkunde. Bd. 1. 1902. S. 89—165.

40) K. Kölsch, Untersuchungen über die Zerfließungserscheinungen der ciliaten Infusorien. Zool. Jahrb. Abtl. f. Anat. u. Ontog. Bd. 16. S. 273—422.

41) Reinke u. Rodewald, Die chemische Zusammensetzung des Protoplasmas von *Aethalium septicum*. Untersuchungen a. d. botan. Labor. d. Univ. Göttingen. 2. Heft 1881 u. 3. Heft 1883.

42) J. Sosnowski, Beiträge zur Chemie der Zelle. Zentralbl. f. Physiol. Bd. 13. 1899. S. 267—270.

43) Antonin Stole, Beobachtungen u. Versuche über die Verdauung u. Bildung der Kohlehydrate bei einem amöbenartigen Organismus, *Pelomyxa palustris* Greff. Z. f. wiss. Zool. 1900. Bd. 68. S. 625—668. T. XII u. XIII.

44) O. Bütschli, Zur Kenntnis der Paramylons. Arch. f. Protistenk. Bd. 7. 1906. S. 197—228.

45) W. Schewiakoff, Über die Natur der sogenannten Exkretkörper der Infusorien. Z. f. wiss. Zool. Bd. 57. 1894. S. 32—56.

46) F. Schaudinn, Untersuchungen üb. den Generationswechsel von *Trichosphaerium Siebold*. Abhandlgn. d. k. Akad. d. Wiss. Berlin 1899. S. 93. Taf. 6.

47) S. Awerinzew, Die Struktur und die chemische Zusammensetzung der Gehäuse bei den Süßwasserrhizopoden. Arch. f. Protistenk. Bd. 8. 1907. S. 95—111.

48) Oswald Richter, Die Fortschritte der botanischen Mikrochemie seit Zimmermanns „Botanischer Mikrotechnik“. Z. f. Mikrosk. u. mikrosk. Technik. Bd. 22. 1905/06. S. 194—261 u. 369—411.

49) O. Treboux, Organische Säuren als Kohlenstoffquelle bei Algen. Bericht d. deutsch. bot. Ges. 23. 1905. S. 432—441.

50) Hans Zumstein, Jahrb. f. wiss. Botan. Bd. 34. 1900. S. 149—198.

51) Pütter, Die Ernährung der Wassertiere. Z. f. allg. Physiol. 1907.

52) Otto Huntemüller, Vernichtung der Bakterien im Wasser durch Protozoën. Arch. f. Hygiene. Bd. 54. 1905. S. 89—100.

53) E. Nirenstein, Beiträge zur Ernährungsphysiologie der Protisten (hier weitere Literatur). Z. f. allgem. Physiol. Bd. 5. 1905. S. 435—510. Taf. 1.

- 54) Henri Mouton, Recherches sur la digestion chez les Amöbes. Ann. de Inst. Pasteur. Ann. 16. 1902. S. 457—509.
- 55) Mesnil u. Mouton, Sur une diastase protéolytique extraite des Infusoires ciliés. Compt. rendus d. séances de la Soc. d. Biol. T. 55. 1903. S. 1016.
- 56) Vernon, The respiratory exchange of the lower marine Invertebrates. Journal of Physiol. Vol. 19. 1895/96. S. 18—70.
- 57) Wakelin Barratt, Die Kohlensäureproduktion von *Paramecium aurelia*. Z. f. allgem. Physiol. Bd. 5. 1905. S. 66—72.
- 58) Jennings, Studies on reactions to stimuli in unicellular organisms. Journ. of Physiol. Vol. 21. 1897. S. 258.
- 59) Rhumbler, Z. f. wiss. Zool. Bd. 46. 1883. S. 559.
- 60) Schaudinn, Abhandlg. d. k. Akad. d. Wiss. Berlin 1899.
- 61) H. v. Baeyer, Das Sauerstoffbedürfnis der Nerven. Z. f. allgem. Physiol. Bd. 2. 1903. S. 169—179.
- 62) Provazek, Studien zur Biologie der Zelle. Zeitschr. f. allg. Physiol. Bd. 2. 1903. S. 385—394.
- 63) Hans Wallengren, Inanitionserscheinungen der Zelle. Z. f. allg. Physiol. Bd. 1. 1901. S. 67—128.
- 64) Kasanzeff, Experimentelle Untersuchungen über *Paramecium caudatum*. Inaug.-Diss. Zürich 1901.
- 65) P. Jensen, Die absolute Kraft einer Flimmerzelle. Pfügers Arch. Bd. 54. 1893. S. 537—551.
- 66) Martius, Methode zur absoluten Frequenzbestimmung der Flimmerbewegung auf stroboskopischem Wege. Arch. f. Anat. u. Physiol. Physiol. Abt. 1884. Verhandlg. d. physiol. Ges. zu Berlin. S. 456—460.
- 67) Jean Massart, Recherches sur les organismes inférieurs. IV Le lancement des Trichocystes. Bulletins de l'Académie royale de Belgique. 1901. Nr. 2. S. 91—106.
- 68) Verworn, Biologische Protistenstudien. I u. II. Z. f. wiss. Zool. Bd. 46. 1888 u. Bd. 50. 1890.
- 69) L. Rhumbler, Physikalische Analyse von Lebenserscheinungen der Zelle. I. Arch. f. Entwickl. Bd. 7. 1898.
- 70) Jennings, A method of demonstrating the external discharge of the contractile vacuole. Zool. Anzeiger. Bd. 27. 1904. S. 656—658.
- 71) K. Kölsch, Untersuchungen üb. die Zerfließungserscheinungen der ciliaten Infusorien. Zool. Jahrb., Abt. f. Anat. u. Ontog., Bd. 16. S. 273—422. Taf. 26—28. Textfig. 1902.
- 72) Th. Bokorny, Vergleichende Studien üb. die Giftwirkung verschiedener chemischer Substanzen bei Algen und Infusorien. Pfügers Arch., Bd. 64. S. 262—306. 1896.
- 73) W. Korentschewsky, Vergleichende pharmakologische Untersuchungen üb. die Wirkung von Giften auf einzellige Organismen. Arch. f. exper. Pathol. u. Pharmakol. Bd. 49. S. 7—31, 1 Taf. 1902.
- 74) H. Schmaus u. E. Albrecht, Zur Frage der Koagulationsnekrose. Deutsche medizin. Wochenschr., Jahrg. 25. S. 89—91 u. 112—114. 1899.
- 75) M. J. Rossbach, Die rhythmischen Bewegungserscheinungen der einfachsten Organismen usw. Verhandlg. d. physik. med. Ges. Würzburg. N. F. 2. 1872. S. 179—242.
- 76) A. Kanitz, Der Einfluß der Temperatur auf die pulsierenden Vakuolen der Infusorien. Biol. Zentralbl. Bd. 27. 1907. S. 11—25.
- 77) H. Nikolaus Maier, Über den feineren Bau der Wimperapparate der Infusorien. Arch. f. Protistenk. Bd. 2. S. 73—179. 1903.
- 78) Pütter, Die Reizbeantwortungen der ciliaten Infusorien. Zeitschr. f. allgem. Physiol. Bd. 3. 1904. S. 406—454.
- 79) In bezug auf die Einzelheiten der Zerfließungserscheinungen vergl. Kölsch, Zool. Jahrb. Abt. f. Anat. u. Ontog. Bd. 16. 1902. S. 273—422.
- 80) H. S. Jennings, The behavior of *Paramecium*. Journal of comparative Neurology and Physiology 1904. Vol. XIV. S. 441—510.
- 81) Sosnowski, Anzeiger der Akad. d. Wiss. zu Krakau. März 1899.

- 82) P. Regnard, Recherches expérimentales sur les conditions physiques de la vie dans les eaux. Paris. Ed. Masson. 1891.
- 83) W. Baratt, Die Wirkung von Säuren und Basen auf lebende Paramaecien. Z. f. allgem. Physiol. Bd. 4. 1904. S. 438—484.
- 84) B. Sand, Action thérapeutique de l'arsenic, de la quinine, du fer et de l'alcool sur les infusoires Ciliés. Annales Soc. royale des sciences médicales et naturelles de Bruxelles. I. 10. 1901.
- 85) Siehe o. Wakelin Barratt, Die Wirkung von Säuren und Basen auf lebende Paramaecien. Zeitschr. f. allgem. Physiol. Bd. 4. 1904. S. 438—484.
- 86) Barratt, Die Addition von Säuren und Alkalien durch lebendes Protoplasma. Z. f. allg. Physiol. Bd. 5. 1905. S. 10—33.
- 87) Pütter, Die Wirkung erhöhter Sauerstoffspannung auf die lebendige Substanz. Z. f. allg. Physiol. Bd. 3. 1904. S. 363—405.
- 88) W. Pfeffer, Über chemotaktische Bewegungen von Bakterien, Flagellaten u. Volvocineen. Untersuch. aus dem botan. Inst. zu Tübingen. Bd. 2.
- 89) Jennings, Studies on reactions to stimuli in unicellular organisms. I. Journ. of Physiol. Vol. 21. 1897.
- 90) W. Barratt, Der Einfluß der Konzentration auf die Chemotaxis. Z. f. allgem. Physiol. Bd. 5. 1905. S. 73—94.
- 91) Engelmann, Neue Methode zur Untersuchung der Sauerstoffausscheidung pflanzlicher und tierischer Organismen. Pflügers Archiv. Bd. 25.
- 92) W. Rothert, Beobachtungen und Betrachtungen über taktische Reizerscheinungen. Flora od. Allg. botan. Zeitung 1901. Bd. 88. S. 372—421.
- 93) E. Hertel, Über Beeinflussung des Organismus durch Licht, speziell durch die chemisch wirksamen Strahlen. Z. f. allgem. Physiol. Bd. 4. 1904. S. 1—43.
- 94) — Über physiologische Wirkung von Strahlen verschiedener Wellenlänge. Zeitschr. f. allgem. Physiol. Bd. 5. 1905. S. 95—122.
- 95) M. Zuelzer, Über die Einwirkung der Radiumstrahlen auf Protozoen. Arch. f. Protistenkunde. Bd. 5. 1905. S. 358—369.
- 96) Schaudinn, Über den Einfluß der Röntgenstrahlen auf Protozoen. Pflügers Arch. Bd. 77. 1899.
- 97) Oltmanns, Über die photometrischen Bewegungen der Pflanzen. Flora. 1892.
- 98) P. Statkewitsch, Über die Wirkung der Induktionsschläge auf einige Ciliata. Le Physiologiste Russe. Vol. III. 1903. Moskau. S. 1—55.
- 99) E. Roesle, Die Reaktion einiger Infusorien auf einzelne Induktionsschläge. Z. f. allgem. Physiol. Bd. 2. 1903. S. 139—168.
- 100) H. Wallengren, Inanitionerscheinungen der Zelle. Z. f. allgemeine Physiol. Bd. 1. 1901. S. 67—128.
- 101) R. Hertwig, Über physiologische Degeneration bei Protozoen. Sitzungsber. d. Ges. f. Morph. u. Physiol. zu München. 1900. S. 7.
- 102) — Über das Wechselverhältnis von Kern u. Protoplasma. Ebenda. 1903. S. 23.
- 103) Gerassimow, Die Abhängigkeit der Größe der Zelle von der Menge ihrer Kernmasse. Z. f. allg. Physiol. Bd. 1. S. 220—258.
- 104) G. Klebs, Die Bedingungen der Fortpflanzung bei einigen Algen u. Pilzen. Jena 1896.
- 105) M. Verworn, Physiologisches Praktikum f. Mediziner. Jena 1907. G. Fischer.