



## Über dieses Buch

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

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

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

## Nutzungsrichtlinien

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

Wir bitten Sie um Einhaltung folgender Richtlinien:

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

## Über Google Buchsuche

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

Princeton University Library



32101 074861749

8852  
.128  
v. 43

Library of



Princeton University.

Presented by  
Charles Williston M<sup>r</sup>. Alpin,  
Class of '88.











**Archiv**  
für  
**Protistenkunde**

Begründet von

**Fritz Schaudinn**

herausgegeben von

**Max Hartmann** und **Adolf Pascher**

Berlin

Prag

**43. Band**

Mit 79 Abbildungen und 12 Kurven im Text und 20 Tafeln



Jena

Verlag von Gustav Fischer

1921

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

# Inhaltsübersicht.

## Erstes und zweites Heft.

(Ausgegeben am 31. Mai 1921.)

Enthaltend Arbeiten aus dem Kaiser-Wilhelm-Institut (Abt. M. HARTMANN),  
Berlin-Dahlem.

Abhandlungen:	Seite
JOLLOS, VICTOR: Experimentelle Protistenstudien. I. Untersuchungen über Variabilität und Vererbung bei Infusorien. (Mit 12 Kurven im Text)	1
HARTMANN, MAX: Untersuchungen über die Morphologie und Physiologie des Formwechsels der Phytomonadinen (Volvocales). III. Mitt.: Die dauernd agame Zucht von Eudorina elegans, experimentelle Beiträge zum Befruchtungs- und Todproblem. (Mit Tafel 1 u. 2 und 7 Textfiguren)	223
BELAR, KARL: Untersuchungen über Thecamöben der Chlamydomyces-Gruppe. Mit Benutzung des Nachlasses von HERMANN SCHÜSSLER. (Mit Tafel 3 bis 10 und 24 Textfiguren)	287

## Drittes Heft.

(Ausgegeben am 21. September 1921.)

Abhandlungen:	
STEMPELL, W.: Haplosporidienstudien. II. Über Bertramia beauchampi n. sp. aus Conochilus volvox EHRBG. (Mit 18 Textfiguren)	355
MÜHL, DOROTHEA: Beitrag zur Kenntnis der Morphologie und Physiologie der Mehlwurmgregarinen. (Mit Tafel 11 u. 12 und 14 Textfiguren)	361
ENTZ, GÉZA: Über die mitotische Teilung von Ceratium hirundinella. (Mit Tafel 13 u. 14 und 10 Textfiguren)	415
BELAR, KARL: Protozoenstudien. III. (Mit Tafel 15—19 und 5 Textfiguren)	431
<b>Kleinere Mitteilungen:</b>	
SCHMID, GÜNTHER: Bemerkungen zu Spirulina TURP.	463
BRESSLAU, E.: Die Gelatinierbarkeit des Protoplasmas als Grundlage eines Verfahrens zur Schnellanfertigung gefärbter Dauerpräparate von Infusorien. (Mit Tafel 20 und 1 Textfigur)	467

**(RECAP)**

185446

#### IV

##### Besprechungen:

	Seite
CHODAT, R.: Sur un Glaucocystis et sa position systematique. (Bull. de la Société Botanique de Genève 2. ser. T. 11 1919 p. 42—50.) Bespr. von A. PASCHER . . . . .	481
CONRAD, W.: Contributions à l'étude des Chryomonadines. (Bull. de la class. d. scienc. d. acad. royale d. Belgique 1920 p. 167—189.) Bespr. von A. PASCHER . . . . .	482
—: Sur un flagellé nouveau à trichocystes Reckertia sagittifera. (Bull. de l'Acad. Roy. Belg. Class. des Sciences 1920 No. 11 p. 544—553 mit 4 Textfiguren) Bespr. von A. PASCHER . . . . .	482
REVERDIN, L.: Etude phytoplanktonique, expérimentale et descriptive des eaux du lac de Genève. (Arch. d. scienc. phys. et nat. 1919. I. Genf. Bespr. von A. PASCHER . . . . .	484
SIMONS, HELLMUT: Eine saprophytische Oscillarie im Darm des Meerschweinchens. (Centralbl. f. Bakt. 1920 Bd. 50 p. 356—368.) Bsp. von A. PASCHER . . . . .	484
BORESCH, K.: Ein neuer, die Cyanophyceenfarbe bestimmender Faktor. (Ber. d. deutsch. bot. Ges. Bd. 38 1920 p. 286.) Autoreferat . . . . .	485
—: Ein Fall von Eisenchlorose bei Cyanophyccen. (Zeitschr. f. Bot. Bd. 13 1921 p. 65.) Autoreferat . . . . .	485



*Nachdruck verboten.  
Übersetzungsrecht vorbehalten.*

## **Experimentelle Protistenstudien.**

### **I. Untersuchungen über Variabilität und Vererbung bei Infusorien.**

Von

**Victor Jollos.**

(Mit 12 Kurven im Text.)

#### **Inhaltsübersicht.**

	Seite
<b>Einleitung. Ausgangspunkt und Problemstellung . . . . .</b>	<b>2</b>
<b>I. Das Untersuchungsmaterial und seine Behandlung . . . . .</b>	<b>5</b>
1. Der Lebenslauf der Paramäcien . . . . .	5
2. Kulturmethoden . . . . .	6
3. Meßmethoden . . . . .	11
<b>II. Das Verhalten von Populationen und Klonen . . . . .</b>	<b>13</b>
<b>III. Abänderungsversuche mit Klonen . . . . .</b>	<b>21</b>
<b>A. Selektionsversuche . . . . .</b>	<b>21</b>
1. Selektion nach Körperlänge . . . . .	21
2. Selektionsversuche mit Hilfe von arseniger Säure . . . . .	22
3. Temperaturversuche . . . . .	24
<b>B. Gewöhnungsversuche. Erzielung von Modifikationen . . . . .</b>	<b>28</b>
1. Gewöhnung an arsenige Säure . . . . .	28
2. Gewöhnung an höhere Temperaturen . . . . .	34
<b>C. Dauermodifikationen . . . . .</b>	<b>35</b>
1. Festigung gegen arsenige Säure . . . . .	35
2. Serumfestigung von Paramäcien . . . . .	77
3. Veränderungen unter der Einwirkung von Calciumverbindungen . . . . .	79
4. Veränderungen durch langdauernde Einwirkung verschiedener Temperaturen . . . . .	94
5. Veränderungen durch langdauernde Einwirkung schwacher Lösungen von arseniger Säure . . . . .	123

	Seite
D. Mutationen . . . . .	123
E. Kombinationen . . . . .	157
F. Zusammenfassung der Ergebnisse . . . . .	164

#### Allgemeiner Teil.

I. Variabilität und Vererbung bei Protisten . . . . .	166
II. Der Begriff der Dauermodifikation, ihre Verbreitung und Bedeutung . . . . .	191
III. Das Problem der Giffestigung . . . . .	209
Literaturverzeichnis . . . . .	219

---

Motto: . . . und was sie deinem Geist nicht offenbaren mag,  
das zwinget du ihr nicht ab mit Hebeln und mit Schrauben.  
Goethe.

### Einleitung. Ausgangspunkt und Problemstellung.

Noch bis vor wenigen Jahren wurden Fragen der Vererbung und Artbildung auf dem Gebiete der Protistenkunde verhältnismäßig selten untersucht. In einer Zeit, in der gerade die Vererbungslehre einen besonderen Aufschwung nahm und sich zum Lieblingszweige der experimentellen Biologie entwickelte, erscheint diese Tatsache eigenartig, um so mehr, da ja die Protisten häufig als Objekte allgemein physiologischer Forschung dienen und eben für die Probleme der Vererbung infolge ihrer raschen Vermehrung und der bei manchen unschwer zu beobachtenden Folge von geschlechtlichen Vorgängen und vegetativer Teilung auf den ersten Blick als besonders geeignetes Material erscheinen mußten. Der Mangel an experimentellen Arbeiten auf diesem Gebiete erklärte sich wohl einmal aus dem Stande der Protistenforschung in dieser Zeit: morphologische und entwicklungs-geschichtliche Fragen waren bei den Protisten so sehr im Vordergrund des Interesses und boten ein derartig reiches und dabei relativ leicht zugängliches Arbeitsgebiet, daß gründlichere experimentelle Untersuchungen daneben zunächst zurückstehen mußten; sodann aber kam hinzu, daß die Protisten bei eingehenderer Bearbeitung sich gerade für die Vererbungsforschung doch als recht spröde und mancherlei auf den ersten Blick kaum geahnte Schwierigkeiten bietende Untersuchungsobjekte darstellten, Schwierigkeiten, die sowohl in der technischen Durchführung von Vererbungsversuchen gegeben sind, die vor allem aber auch bei der Deutung und Einordnung gewonnener experimenteller Ergebnisse zutage treten.

So kam es wohl, daß zur Zeit der Inangriffnahme der vorliegenden Untersuchungen im Jahre 1910 zwar eine ganze Reihe gelegentlicher oder in anderem Zusammenhange angestellter Beobachtungen über Variabilität und Vererbung bei den Protisten vorlagen, des weiteren auch besonders auf bakteriologischem Gebiete eine Anzahl zum Teil wenig kritisch vorgehender und die Ergebnisse der modernen Erbllichkeitsforschung nicht hinreichend berücksichtigender Arbeiten, an wirklich gründlichen, auch strengeren Anforderungen in jeder Hinsicht genügenden Forschungen aber wohl nur die Untersuchungen von JENNINGS an Infusorien.

Bekanntlich hatte JENNINGS durch zahlreiche sorgfältige Beobachtungen und Experimente den Nachweis geführt, daß bei Paramecien, ganz wie in den berühmten Bohnenversuchen von JOHANNSEN, innerhalb der systematischen Art zahlreiche erblich verschiedene Linien zu unterscheiden sind. Und weiterhin hatte er, wiederum ganz in Übereinstimmung mit JOHANNSEN, gefunden, daß Selektionsversuche nur bei einem Gemenge derartiger verschiedener Rassen einer Population (wie wir sie im Freien oder in den üblichen Aufgüskulturen häufig vor uns haben) eine Wirkung ausüben können; sie führen eben zur Herauszüchtung einzelner dieser Linien aus der Population. Innerhalb einer reinen Rasse dagegen, wie sie bei Infusorien ja besonders leicht durch Aufzucht der Nachkommen eines einzelnen Individuums erlangt werden kann, erwies sich Selektion in den JENNINGS'schen Versuchen als völlig wirkungslos.

Diese für unsere ganzen Vorstellungen von Vererbung und Artbildung grundlegenden Ergebnisse von JOHANNSEN und JENNINGS gaben den Anstoß zu den im folgenden mitzuteilenden Untersuchungen, da bei dem Verf. zunächst mancherlei theoretische Bedenken gegen die von den genannten beiden Forschern vertretenen Anschauungen bestanden. Meiner Arbeit lag von vornherein der Plan zugrunde, die Feststellungen von JENNINGS über die Ohnmacht der Selektion bei reinen Linien von Infusorien sowohl unmittelbar, wie besonders auch unter Benützung anderer günstigerer Indikatoren nachzuprüfen, vor allen Dingen aber weiterhin zu untersuchen, wie sich reine Linien bei Einwirkung bestimmt gesetzter Veränderungen der Außenwelt sowie bei über lange Zeiten ausgedehnten Beobachtungen verhalten. Als verändernde Faktoren der Außenwelt kamen Temperatureinflüsse und vor allem bestimmte chemische Agentien, besonders Gifte zur Anwendung. Hier bestand einmal die Möglichkeit, das Verhalten von Populationen und reinen Linien gegenüber extremen Temperaturen und Giften zu prüfen und an dieser Eigenschaft einen

unmittelbaren Prüfstein für die Richtigkeit der JOHANNSEN'Schen Lehre zu gewinnen. Sodann aber bot sich dabei die Gelegenheit, den schon an und für sich höchst interessanten Fragen der Temperatur- und Giftanpassung der Organismen, die damals gerade durch die wichtigen Untersuchungen von EHRLICH und seiner Schule besondere Bedeutung erhalten hatten, auf Grund exakterer vererbungswissenschaftlicher Analyse näher zu treten.

Ein großer Teil der hierbei gewonnenen Ergebnisse wurde bereits 1913 in einer vorläufigen Mitteilung sowie in einigen Abhandlungen aus den folgenden Jahren (JOLLOS 1913, 1913 a, 1914, 1920) kurz geschildert. Im Verlaufe der Untersuchungen erwies es sich als unbedingt notwendig, das normale physiologische Verhalten der Infusorien und besonders die grundlegenden Fragen von Wachstum und Teilung, von der Folge und den Bedingungen von vegetativer Vermehrung, Parthenogenesis und Conjugation genauer klarzustellen, Untersuchungen, über die manches schon in den zuvor erwähnten Abhandlungen berichtet worden ist, die aber aus äußeren Gründen noch nicht in allen Einzelheiten abgeschlossen werden konnten und, um das Erscheinen des vererbungswissenschaftlichen Teiles dieser Arbeiten nicht weiter hinauszuziehen, erst als spätere Folgen der „Experimentellen Protistenstudien“ erscheinen sollen. In dem vorliegenden ersten Teile werden somit nur Probleme der Variabilität und Vererbung bei Protisten behandelt werden. —

Fragestellung und Arbeitsplan waren bei der eingangs skizzierten Lage auf diesem Gebiete klar gegeben: Nach genauer Prüfung eines möglichst großen und von verschiedenen Standorten stammenden Materials aus der freien Natur mußte das Verhalten isolierter verschiedener Rassen festgelegt und dann versucht werden, in reinen Zuchten durch Selektion oder Veränderungen der Außenbedingungen Umwandlungen der Reaktionsnorm einer Rasse zu erzielen. Das Verhalten und die vererbungstheoretische Bedeutung so gewonnener Varianten war alsdann zu prüfen und schließlich zu untersuchen, wie weit die gewonnenen Ergebnisse mit den Beobachtungen anderer Forscher an Protisten, sowie mit den bei Metazoen und Pflanzen entwickelten Anschauungen übereinstimmen. blieb doch auch die wichtige Frage zu beantworten: sind die Variabilitäts- und Vererbungserscheinungen bei Protisten mit dem Verhalten der höheren Organismen überhaupt vergleichbar und auf eine Stufe zu stellen?

Während der seit Inangriffnahme dieser Untersuchung und Veröffentlichung meiner ersten vorläufigen Mitteilung verflossenen Jahre hat sich nämlich das Bild auf dem hier behandelten Gebiete wesent-

lich geändert. Eine ganze Reihe von Arbeiten über Vererbung bei Bakterien sowohl wie Protozoen sind inzwischen erschienen, ohne allerdings größere Klarheit über die erwähnten grundlegenden Fragen zu bringen. Es ist höchst eigenartig, daß, während der Verf. mit Zweifeln an der Richtigkeit der JOHANNSEN-JENNINGS'schen Anschauungen an die Untersuchung heranging und erst durch die gewonnenen Ergebnisse, um dies kurz vorwegzunehmen, zu einer im Prinzip vollständigen Übereinstimmung mit JOHANNSEN's Lehre gelangte, inzwischen JENNINGS selbst und seine Schüler gerade die zuvor abgelehnte Umwandlung von Klonen durch Selektion bei Protisten nachgewiesen zu haben glauben. Mit diesen neueren Ergebnissen und Vorstellungen werden wir uns daher besonders auseinandersetzen müssen.

## I. Das Untersuchungsmaterial und seine Behandlung.

Die zu schildernden Versuche wurden mit Infusorien der Gattung *Paramecium*, und zwar sowohl mit *Paramecium caudatum* wie auch mit *Paramecium aurelia* angestellt. Da es sich somit um recht bekannte Protisten handelt, so sei zum Verständnis der Eigenart des Objektes, soweit sie für die hier behandelten Fragen von Bedeutung ist, nur kurz an folgendes erinnert: die Paramäcien sind holotriche Infusorien von etwa 100—250  $\mu$  Länge und etwa 20—60  $\mu$  Breite. Wie alle typischen Infusorien weisen sie eine Sonderung des Kernmaterials in Macronucleus und Micronucleus auf, und zwar besitzt als wesentlichstes Unterscheidungsmerkmal zwischen den genannten beiden Arten *P. caudatum* nur einen, *P. aurelia* dagegen zwei Micronuclei. Die Vermehrung geschieht durch einfache Querteilung nach vorangegangener Mitose des Micronucleus und primitiverer Durchschnürung des Macronucleus. Die Teilungen folgen sich relativ rasch, unter den üblichen Kulturbedingungen bei 26° etwa 2—3 mal innerhalb 24 Stunden, doch ist die Teilungsfrequenz, wie wir sehen werden, stark von Außenfaktoren abhängig. Die regelmäßige Folge von Wachstum und vegetativer Vermehrung wird bei den Paramäcien zeitweise durch geschlechtliche Vorgänge unterbrochen. Wir kennen hierbei Vorgänge von zweierlei Art: Conjugation und Parthenogenesis.

Bei der Conjugation treten zwei Paramäcien zusammen und verschmelzen partiell für einige Zeit, während an ihrem Kernapparat

komplizierte Umwandlungen zu beobachten sind. In jedem der Conjuganten geht der Macronucleus zugrunde, der Micronucleus (bzw. die Micronuclei) teilt sich zweimal; von den hierbei entstandenen je vier (bei *P. caudatum*) Tochtermicronuclei gehen je drei gleichfalls zugrunde, während der vierte sich nochmals durchschnürt und einen sog. „stationären“ und einen „Wanderkern“ bildet. Die Wanderkerne treten alsdann in den Körper des anderen Conjuganten über und verschmelzen dort mit dessen stationärem Kern. Aus dem Syncarion gehen schließlich durch abermalige Teilungen die neuen Micronuclei und Macronucleusanlagen hervor, Prozesse, die sich aber bereits nach der Trennung der Conjuganten abspielen, die meist kurz nach der Kernverschmelzung erfolgt.

Bei der Parthenogenese sehen wir am Kernapparat im wesentlichen die gleichen Vorgänge: auch hier Auflösung des Macronucleus, auch hier wiederholte Teilung des Micronucleus und schließlich Neubildung von Micronucleus und Macronucleusanlagen von einem der Tochtermicronuclei aus. Nur spielen sich alle diese Vorgänge innerhalb eines einzigen Individuums ab, und es fällt im Vergleich zur Conjugation eine Kernteilung, die Bildung von stationärem und Wanderkern und natürlich die Verschmelzung von Micronucleushälften zweier Individuen fort.

Conjugation wie Parthenogenese sind von äußeren Faktoren abhängig und willkürlich auslösbar. Während aber die Parthenogenese so gut wie jederzeit durch entsprechend gewählte Außenbedingungen hervorgerufen werden kann (vgl. JOLLOS 1916), lassen sich die Bedingungen des Eintritts der Conjugation bisher noch nicht klar übersehen und beherrschen. Ein näheres Eingehen auf diese Verhältnisse muß, wie gesagt, einem späteren Teile dieser Studien vorbehalten bleiben.

---

Neben der Kenntnis der untersuchten Art und ihres Entwicklungsganges ist wesentlichste Voraussetzung für eine Prüfung der Variabilitäts- und Vererbungserscheinungen bei Protisten eine möglichst genaue und gleichmäßige Kultivierung der behandelten Form. Gerade bei *Paramecium*, dem bisherigen Lieblingsobjekt experimenteller Protozoenforschung, liegen die Verhältnisse in dieser Hinsicht leider keineswegs einfach und günstig: Die Paramäcien sind auf die Aufnahme geformter Nahrung, also meist auf Bakterien, angewiesen. Die Untersuchungen erfolgen daher so gut wie immer in einem Medium, das durch seine Zusammensetzung günstige Be-

dingungen für eine reichliche Bakterienentwicklung bietet, dafür aber nicht leicht und eindeutig chemisch zu identifizieren ist.

Dreierlei Nährlösungen sind bisher vor allem angewandt worden: Heu- oder Salataufgüsse oder endlich schwache Bouillonlösung. Die älteren Untersucher begnügten sich häufig mit wenig exakt hergestellten Nährlösungen der genannten Art. Da somit das Milieu, in dem die Infusorien gehalten wurden, keine hinreichende Gewähr für völlige Gleichmäßigkeit während des Verlaufes der Versuche bieten konnte, so sind die mit einer derartigen Kulturtechnik gewonnenen Ergebnisse nur mit Vorsicht zu bewerten und für Vererbungsfragen kaum heranziehbar.

Ein Fortschritt war es daher, als man dazu übergang, bestimmt abgewogene Mengen von Heu- oder Fleischextrakt, neuerdings auch „Malzmilch“ in bestimmter Verdünnung zu verwenden, ein Verfahren, das den JENNINGS'schen Versuchen und den Arbeiten von WOODBUFF zugrunde liegt. Auch diesen Kulturmedien haftet aber noch der Nachteil an, daß einmal das Ausgangsmaterial besonders bei über viele Jahre ausgedehnten Untersuchungen kaum absolut gleichmäßig sein kann; sodann aber besteht immer die Möglichkeit der Entwicklung einer verschiedenen Bakterienflora, die imstande ist, die einzelnen Kulturen in recht verschiedener Weise zu beeinflussen. Ganz ausschalten läßt sich dieser bakterielle Faktor bei langdauernden und mit einer großen Anzahl von Kulturen durchgeführten Versuchen bei *Paramaecium* nur schwer.<sup>1)</sup> Eine gewisse Gleichmäßigkeit wird aber durch schon von JENNINGS empfohlene Vorsichtsmaßregeln erzielt, die einmal in peinlich sauberem Arbeiten mit ständig frisch sterilisierten Instrumenten und Gläsern bestehen, des weiteren in der Einschaltung von Waschpassagen (Gefäßen mit steriler Flüssigkeit, in die die Paramäcien vor jeder Übertragung in neue Kulturlösung gebracht werden, und in denen sie sich von einem großen Teil der mitgeführten Bakterien befreien).

Für viele, vielleicht die meisten Versuche dürfte dieses Verfahren hinreichend gleichmäßige Bedingungen schaffen. Häufig sind sogar nicht einmal derartige Waschflüssigkeitspassagen erforderlich; zeigte sich doch bei den meisten der von mir während mehrerer Jahre geführten und von Zeit zu Zeit bakteriologisch geprüften Massenkulturen von Paramäcien in einer Lösung von 0,0125proz. Liebig's Fleischextraktbouillon, daß bei wirklich sauberem Arbeiten

<sup>1)</sup> Dies gilt für *P. aurelia* und *P. caudatum*. *P. bursaria* scheint dagegen nach den neueren Untersuchungen von PRINGSHEIM wirklich in Reinkultur züchtbar zu sein, dürfte also in mancher Hinsicht günstigere Bedingungen bieten.



in gut geschlossenen Kulturgläsern sich gar bald eine recht weitgehende Gleichförmigkeit des Bakterienbestandes solcher Kulturen herausbildet. Dies erfolgt um so eher, wenn man das Kulturmedium vor Übertragung der Paramäcien mit einer besonders üppig wachsenden Bakterienart beimpft. Ich benutzte zu diesem Zwecke auf Grund früherer günstiger Ergebnisse des Münchener Zoologischen Instituts vor allem verschiedene Stämme von *Bacterium proteus*.

Die Erfahrung ergab, daß in meinen Kulturen die meisten anderen Bakterienarten durch *Bacterium proteus* überwuchert wurden. Unter Einfügung zahlreicher Waschpassagen gelang es sogar zweimal, Reinkulturen von *Paramaecium* mit *Bacterium proteus* zu erzielen, die bei exaktem Arbeiten auch einige Zeit rein erhalten blieben. Aber selbst wenn keine besonderen Vorsichtsmaßregeln zur Verhinderung bakterieller Verunreinigungen angewandt wurden, fanden sich bei derartigen, längere Zeit geführten Zuchten meist nur noch eine, höchstens zwei andere Bakterienarten neben dem *B. proteus*. So enthielten die Massenkulturen meines Stammes h von *Paramaecium aurelia*, den ich seit dem Jahre 1912 in Liebig's Fleischextraktbouillon mit *B. proteus* zunächst als absolute bakterielle Reinkultur („zweigliedrige Reinkultur“ nach der unlängst eingeführten Bezeichnung von OEHLER) in Erlenmeyer-Kölbchen mit Watteverschluß züchtete und nach einigen Monaten ohne besondere Vorsichtsmaßregeln in  $\frac{1}{4}$ -l-Gläsern mit Glasdeckelverschluß weiterführte, bei bakteriologischer Prüfung in den Jahren 1914—1918 neben *Proteus* stets nur noch ein kleines alkalibildendes Begleitbakterium.

Auf Grund solcher Erfahrungen begnügte ich mich daher für die meisten Massenkulturen mit der Aufzucht in Salatwasser oder Liebig's Fleischextraktbouillon (nach WOODRUFF) in dünnwandigen Wassergläsern von ca.  $\frac{1}{4}$  l Inhalt, die gegen gröbere Verunreinigungen durch einen fest anliegenden Glasdeckel geschützt und außerdem meist in einem geschlossenen Schranke gehalten wurden. Das Salatwasser wurde in der Weise gewonnen, daß man einen großen Kopf Salat in einem Liter Wasser längere Zeit kochte, die Flüssigkeit dann abgoß, als Stammlösung aufbewahrte und vor Gebrauch auf ein Drittel verdünnte. Für längere Versuchsserien wurden stets größere Quanten dieses Extraktes auf einmal hergestellt und steril aufbewahrt, um für die ganze Versuchsreihe stets die gleiche Kulturlösung zur Verfügung zu haben.

Zur Anlage von Rohkulturen sehr bequem ist auch die schon von R. HERTWIG benutzte Salatsäckchenmethode, bei der gut ausgekochte Salatblätter in ein Säckchen aus gleichfalls gut ausgekochter

Leinwand oder Gaze gebunden werden, das man dann an einem Faden in ein Kulturglas mit abgekochtem Wasser hineinhängt und im Bedarfsfalle leicht entfernen kann.

Noch bequemer und für die meisten meiner Stämme ebenso günstig wie das Salatwasser erwies sich die von WOODRUFF empfohlene Liebig's Fleischextraktbouillon, mit der ich seit dem Jahre 1913 vorzugsweise meine Kulturen anlege. Wie WOODRUFF verwende ich eine 0,025 proz. Lösung, daneben aber, besonders für Zuchten, die längere Zeit aufbewahrt werden sollen, ohne unmittelbar für Versuche zu dienen, eine noch weiter um die Hälfte oder auf ein Viertel der WOODRUFF'schen Lösung verdünnte Konzentration. Bei Anwendung dieser schwachen Bouillonlösung braucht man, falls es sich nur um eine Aufbewahrung des Materials und nicht um exakte Versuchsreihen handelt, das Kulturmedium nur etwa alle 6 Wochen zu erneuern; bei exakten Versuchen dagegen müssen, um die Anhäufung schädigender Stoffwechselprodukte zu verhindern, regelmäßig alle 8—10 Tage einige Paramäcien zur Weiterführung der Zuchten in ein frisches Glas mit sterilisierter und eventuell vorbeimpfter neuer Kulturlösung überführt werden. In normalen Zeiten, wenn der Liebig'sche Fleischextrakt überall leicht erhältlich ist, bietet das Arbeiten mit diesem Kulturmedium gegenüber dem Salatwasser den Vorteil, daß man wesentlich bequemer große Quantitäten der gleichen Lösung herstellen kann. Wie schon erwähnt, wuchsen meine Paramäcienstämme in der Bouillon ebenso üppig und ohne Störung wie im Salatwasser<sup>1)</sup>. Für genauere Untersuchungen benütze ich daher vorzugsweise dieses Medium.

Will man jedoch ganz exakt vorgehen und besonders den Einfluß bestimmter chemischer Verbindungen eingehender prüfen, so erscheint auch die Fleischextraktbouillon wegen ihrer nicht genau feststellbaren chemischen Zusammensetzung wenig günstig. Für derartige exakteste Prüfungen bediente ich mich daher entweder der für die Kultur von Algen gern verwandten KNOP'schen Nährlösung in einer Konzentration von 0,05 Proz., oder aber einer Lösung von Chlorkalium + Chlorkalzium + Dinatriumphosphat. (Vom Dinatriumphosphat werden einige Tropfen einer 0,5 proz. Lösung zu 1 Liter

<sup>1)</sup> In einer während der Fertigstellung dieser Arbeit erschienenen Veröffentlichung gibt ERDMANN an, es wäre nicht möglich, Massenkulturen von Paramäcien in Bouillonlösung zu führen. Dem gegenüber genügt wohl die Feststellung, daß ich von fast allen meinen Stämmen seit dem Jahre 1914 Massenkulturen in Bouillon längere Zeit gezogen habe und manche Stämme sowohl von *P. caudatum* wie von *P. aurelia* über 5 Jahre ausschließlich in Bouillon in Massenkulturen in der angegebenen Weise züchtete.

einer je 0,005proz. Lösung von KCl und CaCl<sub>2</sub> hinzugefügt.) Natürlich muß diese Lösung ebenso wie die Knop'sche gut sterilisiert werden. Nach meinen Erfahrungen stellen beide Lösungen ein chemisch und osmotisch für *Paramecium* recht günstiges Medium dar. Da sich aber in ihnen Bakterien kaum entwickeln — ein im Interesse der Gleichmäßigkeit und Reinheit der Zuchten gleichfalls sehr erwünschter Umstand —, so bieten sie den Infusorien noch nicht die unerläßlichen Ernährungsbedingungen, eignen sich aber dafür recht gut als Passagemedium zur Anlage von Reinkulturen. Als Nahrung wurden zu diesen anorganischen Lösungen Aufschwemmungen lebender oder abgetöteter Proteuskulturen (gelegentlich auch Kulturen einer anderen Bakterienart) ösenweise bei kleineren, tropfenweise bei größeren Zuchten hinzugefügt. Die Aufschwemmungen müssen vorher durch häufiges Waschen und Zentrifugieren von anhaftenden Bestandteilen ihres Nährbodens befreit werden.

Diese Methode dürfte wohl für Experimente mit Paramäcien die bisher durchsichtigsten und in exaktester Weise kontrollier- und änderbaren Außenbedingungen bieten. Sie ist natürlich erheblich komplizierter als die üblichen Zuchtverfahren und daher nur dort erforderlich, wo es sich um genaueste Experimente handelt. — Sowohl bei der Herstellung der zuletzt genannten anorganischen Lösungen wie auch bei der Bouillon und dem Salatwasser ist besonders auf die Reinheit des verwandten destillierten Wassers zu achten. Das käufliche destillierte Wasser eignet sich nach meinen Erfahrungen im allgemeinen für diese Zwecke nicht, so daß ich nach manchen schlechten Ergebnissen dazu überging, ausschließlich im Laboratorium selbst aus Glaskolben (im sog. Femel-Destillierapparat von Lautenschläger Berlin) destilliertes Wasser zu verwenden.

Endlich mag auch noch darauf hingewiesen werden, daß für die Paramäcien-, wie für Protistenkulturen überhaupt, nicht alle Glassorten für die Aufzucht geeignet erscheinen. Unter allen Umständen empfiehlt es sich, die Kulturgläser vor Gebrauch mit einer stark verdünnten Salzsäurelösung gründlich auszukochen und dann durchzuspülen.

Neben den in Viertellitergläsern geführten Massenzuchten war für manche Zwecke die Anlage von Zählkulturen erforderlich. Nach dem Vorgange von WOODRUFF benutzte ich hierzu hohlgeschliffene Objektträger, die etwa  $\frac{1}{2}$  ccm Flüssigkeit aufnehmen konnten und mit der Lupe oder dem binocularen Mikroskop leicht zu übersehen waren. Natürlich mußten auch sie vor dem Gebrauch gründlich ausgekocht und steril aufbewahrt werden.

Auch für die Kultur und Isolierung von Klonen benützte ich vorwiegend diese Objektträger, versetzte einzelne Paramäcien der aus dem Freien ins Laboratorium gebrachten Populationen unmittelbar in diese kleinen Nährlösungsmengen, um sie erst nach eingetretener Vermehrung aus dem Objektträger in große Zuchtgefäße zu überführen.

---

Für die Durchführung der zu schildernden Versuche war außer dem konstanten Nährmedium auch die Herstellung möglichst konstanter Außentemperaturen von besonderer Wichtigkeit. Während ich zu Beginn meiner Versuche, im Münchener Zoologischen Institut und im Institut für Infektionskrankheiten in Berlin, noch mit gewöhnlichen, wenn auch gut regulierten Thermostaten arbeiten mußte, in denen es bei länger dauernden Experimenten immerhin zu Schwankungen von 1—3° kommen konnte, standen mir später im Kaiser-Wilhelm-Institut für Biologie in Berlin-Dahlem Thermostaten zur Verfügung, die neben der üblichen noch eine elektrische Regulierung besaßen und, einmal gut in Gang gebracht, Schwankungen von höchstens einem halben Grad zuließen. Bei wichtigeren Versuchsserien wurde dies stets an einem in den Thermostaten gesetzten Thermographen dauernd kontrolliert. —

Über die verwandten Giftlösungen wird bei den einzelnen Versuchen Näheres berichtet werden, dagegen müssen wir hier noch mit einigen Worten auf das den Messungen zugrunde liegende Verfahren hinweisen: Gemessen wurde stets in gleicher Weise mit Sublimat-Eisssig abgetötetes Material, und zwar ging ich, um möglichst gleichaltrige Individuen zu erhalten, in der Weise vor, daß Individuen, die sich schon in irgendeinem Stadium der Plasmadurchschnürung befanden, aus den Massenkulturen heraus isoliert, gesammelt und 4 Stunden danach zusammen abgetötet wurden.

Auf diese Weise wurden frisch aus der Teilung hervorgegangene oder unmittelbar vor einer neuen Teilung stehende Paramäcien mit einiger Sicherheit von den Messungen ausgeschlossen und das Alter der geprüften Individuen, vom Moment der vollzogenen Durchschnürung an gemessen, konnte nur um höchstens 1—2 Stunden differieren. Gemessen wurden ferner ausschließlich Kulturen, die sich im Stadium intensiver Vermehrung befanden und 2—3 Tage zuvor in eine frische Nährlösung gebracht worden waren. Auf diese Vorsichtsmaßnahmen wurde besonders Wert gelegt, nachdem bei ursprünglich ohne solche feste

Regel durchgeführten Messungen mitunter recht ungleichmäßige Ergebnisse zutage getreten waren. Nach den in der Zwischenzeit gewonnenen Kenntnissen über die Parthenogenese war zu vermuten, daß eben dieser Prozeß sich bei Nichtanwendung der erwähnten Vorsichtsmaßregel störend bemerkbar machen konnte. Auch unter den beschriebenen Kautelen zeigen sich besonders bei über lange Zeiträume sowie nach Conjugationen fortgeführten Messungen Schwankungen der Mittelgröße, die zur Vorsicht bei der vererbungstheoretischen Deutung von Größenveränderungen mahnen. Zum Teil dürften diese Schwankungen, wie wir sehen werden, auf kaum ganz vermeidbare Veränderungen des Macronucleus nach den geschlechtlichen Prozessen zurückzuführen sein, zum Teil vielleicht auch auf Messungen in etwas verschiedenen Lebensstadien.

Neuerdings hat RH. ERDMANN (1920) sich nämlich der Mühe unterzogen, genauere Messungen der Schwankungen in der Größe von Paramäcien in der Zeit zwischen zwei Parthenogenesen vorzunehmen. Sie kommt dabei zu der Unterscheidung von drei Phasen, einer ersten, unmittelbar nach der Parthenogenese, bei der die Paramäcien geringe Durchschnittslängen und Durchschnittsbreiten, geringe Standardabweichungen und niedrigen Korrelationskoeffizienten aufweisen; einer zweiten Periode, bei der die Durchschnittslängen ihren höchsten Stand erreichen, während die anderen Werte langsam wachsen, und einer letzten, vor der nächsten Parthenogenese, bei der die Durchschnittslänge wieder gesunken ist, während Durchschnittsbreite, Standardabweichung und Korrelationskoeffizient die höchsten Werte haben. Für die Beurteilung unserer Ergebnisse sind diese an sich gewiß dankenswerten mühevollen Messungen von sekundärer Bedeutung, da es ja nur darauf ankommt, daß wirklich gleichartiges Material, also Paramäcien der gleichen Phase verglichen werden. Diese Gleichartigkeit aber wurde bei unseren Messungen, über die im folgenden zu berichten sein wird, eben durch die zuvor erwähnten Vorsichtsmaßregeln erzielt. Da die Messungen stets erst einige Tage nach Überführung in die Kulturlösung (und eventuell auch neue Temperaturbedingungen) und ausschließlich an Kulturen mit üppiger Vermehrung erfolgten und da, wie wir heute wissen, die Überführung in veränderte Außenbedingungen leicht Parthenogenese auslöst, so befanden sich unsere gemessenen Infusorien wohl meistens im Stadium der ersten von RH. ERDMANN unterschiedenen Phase; wo aber dies vielleicht doch nicht der Fall war, handelt es sich immer nur um Größenschwankungen, die innerhalb des von uns für jede untersuchte Art angegebenen Spielraumes bleiben

(vgl. Tab. 1), während in den wenigen Fällen, in denen im folgenden Änderungen der Durchschnittslänge eines Klonen bei unseren Beobachtungen eine wichtige Rolle spielen, stets Abweichungen von ganz anderer Größenordnung vorliegen.

---

## II. Das Verhalten von Populationen und Klonen.

Das Ausgangsmaterial für meine Untersuchungen stammte zunächst aus verschiedenen stehenden Gewässern in der Umgebung von München (Possenhofen, Dachau, Murnau u. a.). Später kamen auch Paramäcien aus der Berliner Umgebung hinzu. Die aus dem Freien gebrachten Infusorien wurden in möglichst großer Zahl aus dem Fanggefäß herausgefischt und in eine der zuvor genannten Nährlösungen gebracht.

Vor der Prüfung der Erbliehkeitsverhältnisse unter dem Einflusse bestimmt gesetzter Selektions- oder abnormer Außenbedingungen war es natürlich notwendig, das Ausgangsmaterial und seine Variabilität genauer kennen zu lernen. Auf dreierlei Weise wurde diese Prüfung durchgeführt: Einmal konnte man, ganz wie JENNINGS, Länge und Breite der Infusorien messen, Untersuchungen, die sehr zeitraubend und daher immer nur mit relativ beschränktem Material durchführbar sind und daher im Verlauf meiner Arbeit zum größten Teil zugunsten der anderen Prüfungsmethoden zurücktreten mußten. Denn wesentlich bequemer ist naturgemäß die Prüfung des Verhaltens der Paramäcien gegenüber verschiedenen Giftlösungen sowie extremen Temperaturen. Es erwies sich nämlich, daß auch hinsichtlich der Giftresistenz und der Temperaturbreite nicht unbeträchtliche Verschiedenheiten unter den Paramäcien bestehen, Verschiedenheiten, die aber nur bei Anwendung der beschriebenen sorgfältigen Zuchtmethoden und bei Vergleich von guten, sich intensiv vermehrenden Kulturen (ganz wie bei den Messungen) klar und konstant hervortreten.

Die aus dem Freien gewonnenen Paramäcien wurden zunächst bei Zimmertemperatur gezüchtet und Proben aus den Massenkulturen alsdann in Temperaturen von 6—10, von 25—27 und von 32—35, gelegentlich auch von 37° gebracht und einige Zeit darin belassen. Gar bald zeigten sich nun hierbei mancherlei Unterschiede zwischen dem von verschiedenen Fundorten oder auch zu verschiedenen Zeiten vom gleichen Fundort geholten Material. Während beispielsweise

von den Paramäcien des einen Fundortes, die bei niedrigster Temperatur gehaltenen Zweigkulturen nach einiger Zeit ausgestorben waren, dagegen die bei 25—27 sowie bei 32—35° geführten Proben sich gut vermehrt hatten, blieben bei einem anderen Ausgangsmaterial umgekehrt nur die bei 6—10 und 25—27, nicht aber die bei 32—35° gehaltenen Infusorien dauernd am Leben.

Verschieden war aber weiterhin mitunter auch das Verhalten von Zweigkulturen des gleichen Ausganges, die unter die angegebenen verschiedenen Temperaturbedingungen versetzt und dann nach einiger Zeit untereinander verglichen oder ausgetauscht wurden. So brachte ich von einer Anfang November 1910 aus einem Weiher bei Possenhofen (am Starnberger See) gefischten und zunächst drei Wochen bei Zimmertemperatur gezüchteten Paramäcienpopulation Anfang Dezember 1910 einen Teil in 6—8, einen anderen in 25—27, einen dritten in 35°. In allen drei Zweigen fanden sich Mitte Januar 1911 (die Kulturen mußten natürlich in der Zwischenzeit mehrmals in frische Lösung von zuvor auf die gleiche Temperatur erwärmtem oder abgekühltem Salatwasser überführt werden) zahlreiche Paramäcien. Brachte ich aber nunmehr die bei 8—10° gehaltenen Infusorien in den 35°-Thermostaten und umgekehrt, die bei 35° geführten in 8°, so starben sämtliche Kulturen in kurzer Zeit völlig aus. Dies Ergebnis konnte auch nicht dadurch verändert werden, daß man die bei den extremen Temperaturen gehaltenen Paramäcien zunächst auf eine Woche in Zimmertemperatur und dann von hier aus erst die zuvor bei 35° gehaltenen in 8°, die bei 8° gezüchteten in 35° versetzte: die aus der Ausgangskultur einmal für längere Zeit in 8° versetzten Zweigzuchten blieben dauernd unfähig, sich bei 35° am Leben zu erhalten, und umgekehrt konnten die aus der ursprünglich gleichen Ausgangskultur stammenden längere Zeit bei 35° geführten Proben auf keine Weise dazu gebracht werden, bei 8° lebensfähig zu bleiben. Von den bei 25—27° kultivierten Zweigzuchten aus konnte man dagegen immer Übertragungen sowohl in 35° als auch in 8° vornehmen, ohne daß die übertragenen Kulturen ausstarben.

Wie erklärt sich nun dies Ergebnis? Was war mit den unter verschiedene Temperaturbedingungen versetzten Zweigkulturen des gleichen Ausgangsmaterials erfolgt? Hatten wir es hier mit Umwandlungen unter dem Einfluß der extremen Temperaturen oder nur mit einer Selektion bestimmter Varianten aus einem von vornherein nicht einheitlichen Ausgangsmaterial, einer Population im Sinne JOHANNSEN'S, zu tun? Die Entscheidung war unschwer zu treffen,



wenn man nunmehr dazu übergang, an Stelle eines unanalysierten Ausgangsmaterials reine Linien zu verwenden.

Ein solches reines Ausgangsmaterial erhält man nun bei *Paramecien* sehr leicht in der Weise, daß man einzelne Individuen isoliert und sich gesondert durch Teilung vermehren läßt. Derart gewonnene Zuchten stellen naturgemäß in vererbungstheoretischer Hinsicht ein besonders einheitliches Material dar, entsprechen allerdings streng genommen nicht dem von JOHANNSEN aufgestellten Begriff der reinen Linien, dem ja die Verhältnisse auf Vermehrung im Anschluß an einen Befruchtungsprozeß angewiesener Pflanzen und Metazoen zugrunde lagen. Daher bezeichnete ich in meiner ersten Mitteilung (JOLLOS 1913) derartige Zuchten als „Individuallinien“. Inzwischen hat sich hierfür der Ausdruck „Klon“ eingebürgert, so daß er im folgenden gleichfalls verwandt werden soll.

Wurden nun von dem zuvor behandelten Possenhofener Ausgangsmaterial zahlreiche Klone angelegt, so ergab sich bei gleicher Behandlung wie zuvor ein wesentlich anderes Bild: sämtliche Klone konnten aus Zimmertemperatur, ohne Schaden zu erleiden, in 25—27° versetzt werden. Ein Teil von ihnen vertrug auch ohne weiteres die Übertragung aus Zimmertemperatur in 35°, starb aber bei Versetzung in 8° regelmäßig aus, gleichgültig, ob diese Versetzung aus 35° oder aus Zimmertemperatur erfolgte. Ein anderer Teil der Klone dagegen konnte umgekehrt ohne weiteres in 8—10° übertragen werden, blieb aber unter keinen Umständen bei 35° lebensfähig. Prüfte man nun die Größenverhältnisse der einzelnen Klone sowie auch der bei der ersten Versuchsreihe in 35 bzw. 8° dauernd sich vermehrenden *Paramecien*, immer nach Versetzung in 25°, so ergab sich ein recht klares, die vorliegenden Verhältnisse wohl eindeutig aufhellendes Bild: in dem Possenhofener Ausgangsmaterial waren zwei verschiedene Typen zu unterscheiden, einmal eine etwas kleinere Rasse, die ohne weiteres eine Temperatur von 35°, nicht aber von 8° vertrug und zweitens eine größere, die bei 8°, nicht aber bei 35° existieren konnte. Bei Zimmertemperatur, und ebenso bei 25—27°, waren beide Rassen lebensfähig, so daß wir unter diesen Bedingungen Mischkulturen von beiden erhielten. Bei 35° blieb nur die (in unseren Protokollen als Z bezeichnete) kleinere Rasse am Leben, die größere (als IV bezeichnete) starb innerhalb kurzer Zeit restlos aus. Das umgekehrte Verhalten lag bei den Kältekulturen vor, da hier nur die Rasse IV lebensfähig war. Von den isolierten Klonen gehörte ein Teil (bei unserem Versuche von 15 Klonen 11) zur Rasse IV, der Rest zur Rasse Z. Unter sich

stellten die verschiedenen Klone von Z sowie die bei 35° geführten unmittelbar aus der Ausgangspopulation gewonnenen Zuchten auf der einen, die elf zur Rasse IV gehörigen Klone und die Kältekultur auf der anderen Seite ein in ihrem Verhalten gegen verschiedene Temperaturen, in den Größenverhältnissen und, wie vorweggenommen sei, auch in der Widerstandsfähigkeit gegenüber Giften völlig einheitliches Material dar. Durch die Versetzung in verschiedene Temperaturen hatten wir also die beiden Rassen Z und IV voneinander gesondert und einzeln fortgezüchtet, hatten aber an dem primären Charakter der einzelnen Rassen nichts geändert.

In dem verschiedenen Verhalten gegenüber extremen Temperaturen war somit ein recht bequemes Hilfsmittel zur Trennung verschiedener Rassen gegeben. Weitere Möglichkeiten boten die daneben ausgeführten Versuche mit Arsenverbindungen.

Bei der Prüfung des Verhaltens der Paramäcien gegenüber Arsen wurde prinzipiell in der gleichen Weise verfahren wie bei den Temperatureinwirkungsversuchen. Nach mancherlei Vorarbeiten mit verschiedenen organischen Arsenverbindungen (Arsacetin, Arsenophenylglycin, später auch Salvarsan), die sich wegen ihrer geringeren Haltbarkeit als weniger geeignet für langdauernde Prüfungen erwiesen, benutzte ich endlich fast ausschließlich die arsenige Säure, und zwar diente mir als Stammlösung eine zunächst in München aus dem Laboratorium von Dr. SCHWALM <sup>1)</sup>, später in Berlin von der Firma KAHLBAUM bezogene  $\frac{1}{10}$  n-Lösung von  $As_2O_3$ . Auf diese  $\frac{1}{10}$  n-Lösung als Norm beziehen sich sämtliche im Verlaufe dieser Arbeit gemachten Konzentrationsangaben. Es ist also eine hier als 1 proz. bezeichnete Lösung =  $\frac{1}{1000}$  n usw.

Ursprünglich wurde mit relativ starken Konzentrationen gearbeitet, bei denen daher die Giftwirkungen rasch zutage traten und zwischen den einzelnen Populationen oder zwischen den Individuen der gleichen Population oder des gleichen Klones nur Unterschiede in der Schnelligkeit der Abtötung bestanden. Dieses Verfahren, das ja fast stets bei Giftversuchen mit Infusorien angewandt wurde und wird, erwies sich aber als wenig zweckmäßig, da hierbei nicht selten widerspruchsvolle Ergebnisse erzielt werden, die wohl durch den Ernährungszustand und das Teilungsalter der Infusorien bedingt sein können. Gleichmäßiger gestalteten sich die Resultate, wenn nicht die zeitliche Differenz der Abtötung verschiedener Kulturen berücksichtigt wurde, sondern die Grenzkonzentration, bei der noch

<sup>1)</sup> Diese Lösungen enthielten Spuren von  $Na_2CO_3$ .

dauernde Lebensfähigkeit bestand. Diese „maxima-tolerata-Dosis“ schwankte bei den von mir untersuchten Stämmen zwischen 0,3 Proz. und 1,4 Proz. meiner arsenigen Säure, bei Verwendung von Salatwasser-Kulturen. Die Zuchten in Liebig's Fleischextraktbouillon erwiesen sich bei manchen Klonen als etwas widerstandsfähiger. So konnte mein Stamm *a* von *Paramaecium caudatum* in Salatwasser nur bei einer Konzentration von höchstens 0,9 Proz. gezüchtet werden, während die Kulturen in Liebig's Fleischextraktbouillon noch 1,1 Proz., in vereinzelt Fällen sogar 1,2 Proz. der arsenigen Säure vertrugen.

Bei der Feststellung der Widerstandsfähigkeit gegenüber der arsenigen Säure ist aber (noch mehr als bei dem Verhalten gegenüber extremen Temperaturen) neben der Beschaffenheit des Kulturmediums auch das „Laboratoriumsalter“ des zu prüfenden Stammes von Bedeutung. Die Erfahrungen, nicht nur an meinen Paramäcien, sondern auch an manchen anderen lange fortgezüchteten Protozoen und Algen zeigen nämlich, daß längere Zeit kultivierte Protisten häufig eine gewisse erhöhte Widerstandsfähigkeit gegenüber allerhand äußeren Schädigungen erlangen. Das Geheimnis mancher gut weiterführbaren Kulturen liegt eben nur darin, daß man derartige widerstandsfähiger gewordene alte Laboratoriumsprotisten besitzt.

Bei meinen Paramäcien äußerte sich diese gesteigerte Widerstandsfähigkeit aber nicht etwa in einer dauernden Resistenz gegenüber höheren Konzentrationen (dies würde ja alle Umstimmungs- und erblichen Abänderungsversuche auf Grundlage der Widerstandsfähigkeit gegenüber Giften ziemlich illusorisch machen, da man dann keine unveränderte Vergleichsform auf die Dauer besitzen könnte), sondern in der Verzögerung der Abtötungsdauer nicht mehr ständig vertragener Lösungen von arseniger Säure (vgl. hierzu besonders die Protokolle zum Kapitel Dauermodifikationen).

Daher mußten bei späteren Versuchsserien im allgemeinen erst die Ergebnisse vom fünften Tage nach Einwirkung der arsenigen Säure verglichen werden, während in den ersten Monaten des Laboratoriumsalters der betreffenden Klone stets schon spätestens am dritten Tage klare Resultate vorlagen.

Berücksichtigt man all die genannten, die Ergebnisse auf den ersten Blick verwirrenden Umstände, so lassen sich auch hinsichtlich der Widerstandsfähigkeit gegenüber der arsenigen Säure recht konstante Unterschiede zwischen verschiedenen Stämmen von *Paramaecium caudatum* sowohl wie von *Paramaecium aurelia* nachweisen.

Und ganz entsprechend den zuvor beschriebenen Temperaturversuchen lassen sich auch mit Hilfe verschiedener Konzentrationen von arseniger Säure aus Populationen verschiedene Rassen herausisolieren; besonders schön, wenn man beide Methoden kombiniert, da die höhere Widerstandsfähigkeit gegenüber extrem niedrigen oder extrem hohen Temperaturen keineswegs einer erhöhten Arsenresistenz parallel geht. Als drittes Hilfsmittel zur Charakterisierung und Trennung verschiedener Rassen, das wir ja auch bei dem zuvor beschriebenen Beispiele der Possenhofener Population heranzogen, dienen eben die Messungen der *Paramaecium*-Größe.

Mit Hilfe der genannten drei Kriterien, der Größenverhältnisse, der Widerstandsfähigkeit gegenüber extremen Temperaturen sowie gegen arsenige Säure, wurden in den Jahren 1910—1912 aus zahlreichen Paramäcien-Populationen der Umgebung von München 54 Stämme, davon 51 von *Paramaecium caudatum* und drei von *Paramaecium aurelia* genau geprüft. Weiterhin in den Jahren 1911—1918 weit über 100 verschiedene *Paramaecium*-Populationen aus der Berliner Umgebung, aus denen ich nochmals 50 Stämme isolierte, unter denen sich bemerkenswerterweise nur 7 mal *Paramaecium caudatum* und 43 mal *Paramaecium aurelia* befand. Unter den isolierten Stämmen wurden wenigstens 12 Rassen festgestellt, die dauernd in einem oder mehreren der geprüften Charaktere untereinander zu unterscheiden waren: 9 von *Paramaecium caudatum* und 3 von *Paramaecium aurelia*. Auf Tab. 1 ist eine zusammenfassende Übersicht des Verhaltens dieser 12 verschiedenen Rassen gegeben. Für die Temperaturbreite und die Widerstandsfähigkeit gegenüber arseniger Säure sind in dieser Tabelle die extremsten bei sehr zahlreichen Beobachtungen einigermaßen regelmäßig gewonnenen Werte angegeben.

Seit dem Jahre 1915 wurde noch ein viertes Kriterium benützt, das Verhalten der Teilungsrate. Da die hierbei gewonnenen Ergebnisse sich aber sehr schwer in unsere Übersichtstabelle einreihen lassen, da außerdem die Prüfung der Teilungsrate nicht zur Aufindung weiterer erblich verschiedener Rassen führte, sondern nur einen weiteren Unterschied zwischen manchen der schon mit Hilfe der anderen Methoden getrennten Stämme zeigte, so wollen wir auf das Verhalten der Teilungsrate im einzelnen nur bei den Versuchen eingehen, bei denen sie zum Verständnis der gewonnenen Resultate von Bedeutung war. —

Die augenfälligen positiven Resultate selektiver Züchtung in Populationen, wie sie die alten Arbeiten von JOHANNSEN und JENNINGS dargetan, und wie wir sie zuvor gleichfalls kennen gelernt haben,

Tabelle 1.  
Verhalten der untersuchten Ausgangsrassen.

Bezeichnung der Rasse	Paramaecium caudatum										Paramaecium aurelia		
	α	A	B	D	M	IV	V	Z	c	e	g	h	
Mittlere Länge bei 18–21°	40–42 Maß- einheiten <sup>1)</sup>	45–46	42–43,5	46–47	39–40	44–45	40–41	39–40	44–46	35–36,5	33–34	34,5–36	
Temperaturbreite	6–37°	12–29°	8–39°	8–31°	12–35°	8–31°	8–35°	12–35°	? 8–30°	8–29°	? 12–31°	?–35°	
Maximale ver- tragene Kon- zentration von As <sub>2</sub> O <sub>3</sub> in Salat- wasser	0,9 %	0,8–0,9 %	1 %	0,7 %	0,3 %	0,85–1 %	1 %	0,8 %	1,1 %	0,7 %	0,9 %	0,9 %	
Fundort	Possen- hofen am Starn- berger See	Possen- hofen	Dachau bei München	Dachau	Murnau (Ober- bayern)	Possen- hofen	Possen- hofen	Possen- hofen	Grüne- wald bei Berlin	Isartal	Grüne- wald	Tier- garten Berlin	

<sup>1)</sup> Eine Maßeinheit betrug bei meinen Messungen ca. 4 µ.

ließen sich ohne weiteres durch die Isolierung einzelner Rassen aus einem in Populationen häufig enthaltenen Gemenge erklären. Erst in den isolierten Rassen und Klonen hatten wir somit das Material vor uns, an dem die eingangs erwähnten Fragen über die Möglichkeit von erblichen Änderungen der Reaktionsnorm durch Selektion oder veränderte Außenbedingungen geprüft werden mußten.

Doch noch eine Vorsichtsmaßregel war hierbei erforderlich: Eine Individuallinie von *Paramecium* bildet zwar bei vegetativer Vermehrung in vererbungstheoretischer Hinsicht das denkbar einheitlichste Material. Sie könnte aber, um in der Sprache der modernen Erblchkeitslehre zu reden, heterozygot sein, d. h. unter sich verschiedene Gene besitzen, die gerade das geprüfte Verhalten mit beeinflussen und bei etwaigen geschlechtlichen Prozessen aufspalten. Es könnte somit, zum mindesten theoretisch<sup>1)</sup>, eine im Laufe der Zeit nachgewiesene erbliche Änderung statt durch die experimentell gesetzten Bedingungen durch ein solches Aufspalten bei einer in Massenkulturen übersehenen Conjugation oder im Zusammenhang mit einer Parthenogenesis hervorgerufen worden sein. Um auch solche Möglichkeiten, soweit es überhaupt angeht, auszuschalten, wurden einzelne Klone meiner *Paramecium*-Rassen gezwungen, mehrmals hintereinander in sich zu conjugieren. Wie JENNINGS, der bereits derartige wiederholte Conjugationen innerhalb eines Klones beobachtet hat, vor einiger Zeit ausführte, ist die Wahrscheinlichkeit auf Heterozygotie zu stoßen bereits nach einigen wenigen Conjugationen innerhalb eines Klones äußerst gering. Unter meinen Stämmen wurden bei  $\alpha$  in der Zeit von Dezember 1910 bis Mai 1911 acht Conjugationen hintereinander hervorgerufen (in der Weise, daß der Stamm immer aus isolierten Conjugationspärchen weiterzuführen war). In gleicher Weise machten Stamm IV sechs Conjugationen, Stamm h sogar zehn Conjugationen in sich durch. Irgendeine Schwächung oder Schädigung oder überhaupt ein dauernder Unterschied gegenüber dem Verhalten ohne diese fortgesetzte „Inzucht“ geführter Klone der gleichen Rasse konnte in keinem Falle beobachtet werden. Es waren aber durch diese wiederholten Conjugationen innerhalb eines Klones jedenfalls Stämme von größtmöglicher Einheitlichkeit der Erbanlagen gewonnen, an denen sonst erzielte zweifelhafte Ergebnisse einwandfrei geprüft werden konnten.

---

<sup>1)</sup> Die später, im Abschnitte „Kombinationen“, mitzuteilenden Beobachtungen zeigen aber, daß es sich hierbei nicht nur um theoretisch konstruierte Einwände handelt.

— Zu prüfen war zunächst also die Wirkung von Selektionen innerhalb eines Klones.

**A. Selektion in Klonen.**

**1. Selektion der Körperlänge.**

Versuche, durch Auswahl und gesonderte Weiterzucht größter oder kleinster Paramäcien den Charakter eines Klones zu ändern, sind bekanntlich von JENNINGS in musterhafter Weise und mit absolut negativem Ergebnis angestellt worden. Ich beschränkte mich daher auf wenige Versuche in gleicher Richtung. Von der Individuallinie  $\alpha$  wurden Januar 1911 jeweils drei besonders kleine und besonders große Paramäcien ausgewählt und isoliert parallel mit der Ausgangskultur weitergezogen. Verglichen wurden stets nur frisch geteilte Infusorien, um jeden Altersunterschied mit Sicherheit ausschließen zu können. In regelmäßigen Abständen von 4 Wochen wurde alsdann in den aus den isolierten Paramäcien hervorgegangenen Zuchten das gleiche Selektionsverfahren wiederholt und im Juni 1911 nach der sechsten Selektion die Größe sowohl der ohne Selektion geführten Ausgangskultur wie der in entgegengesetzter Richtung einer Selektion unterworfenen Zuchten bestimmt und verglichen, und das Resultat dann noch durch abermalige Messungen im Juli und Oktober 1911 überprüft. Fig. 1 gibt nochmals graphisch die Versuchsanordnung wieder, während die Ergebnisse der Selektion aus Tab. 2 zu ersehen sind. Mit aller Deutlichkeit können wir aus dieser Tabelle entnehmen, daß die sechsmal wiederholte in entgegen-



Fig. 1. Schema der Größen-Selektionsversuche.



gesetzter Richtung durchgeführte Selektion innerhalb des Klones  $\alpha$  zu keiner Aufspaltung des Klones oder zu einer Verschiebung der Durchschnittsgröße geführt hat. Die Nachkommen der ausgewählten größten Individuen unterschieden sich nicht merklich von den Abkömmlingen der isolierten kleinsten Paramäcien der Individuallinie oder von den ohne Selektion weitergeführten Zuchten von  $\alpha$ .

Tabelle 2.

Stamm	Zeit der Messungen		
	Juni 1911	Juli 1911	November 1911
$\alpha$ (ohne Selektion geführt)	41,45	41,2	41,64
$\alpha'$ (nach selektiver Zucht der größten Individuen)	41,25	40,95	41,92
$\alpha''$ (nach selektiver Zucht der kleinsten Individuen)	41,02	41,35	41,85

Nach diesem mit den Angaben von JOHANNSEN und JENNINGS völlig übereinstimmenden Ergebnis wurde von weiteren Selektionen auf Grund der Größenverhältnisse Abstand genommen, besonders auch im Hinblick darauf, daß bei diesen recht zeitraubenden und mühevollen Versuchen von vornherein wegen der verhältnismäßig geringen Zahl der durchführbaren Selektionen und isolierten Weiterzuchtungen wesentlich schlechtere Aussichten auf Erfolg geboten schienen als bei den anderen von mir benutzten Verfahren, der Selektion durch arsenige Säure oder durch extreme Temperaturen.

## 2. Selektionsversuche mit Hilfe von arseniger Säure.

Bei den Experimenten mit Hilfe der arsenigen Säure war die Versuchsanordnung nämlich folgende: Nachdem zuvor zu wiederholten Malen für jede Linie, wie oben angegeben, die Grenzkonzentration von arseniger Säure bestimmt worden war, in der sie sich noch gerade dauernd halten konnte, wurden von jedem der Selektion unterworfenen Klone mehrere Zweigkulturen angelegt und eben in diese Grenzkonzentration versetzt. In dieser Lösung stirbt naturgemäß ein großer Teil der Paramäcien, da nur die widerstandsfähigsten Individuen sich noch halten können. Nach mehrtägiger Einwirkung der Lösung werden dann die überlebenden Infusorien in das normale, arsenfreie Kulturmedium zurückversetzt, um dann,

nach etwa acht Tagen, in denen sie sich üppig vermehren können, abermals auf zwei bis drei Tage in die arsenige Säure gebracht zu werden. Wieder sterben die weniger widerstandsfähigen Individuen ab, die resistenteren vermehren sich nach Zurückversetzung in das normale arsenfreie Medium, und der Selektionsversuch kann dann in gleicher Weise beliebig oft weitergeführt werden.

Die Vorteile eines solchen Verfahrens gegenüber der Isolierung besonders großer und besonders kleiner Individuen liegen auf der Hand:

Nicht nur sind die Versuche viel bequemer und weniger zeitraubend als die zahlreichen bei der Größenselektion erforderlichen Messungen, so daß sie daher gleichzeitig an einem unvergleichlich größeren Material durchgeführt werden können — sondern auch die Aussichten auf einen positiven Erfolg der Selektion, wenn ein solcher unter den gegebenen Verhältnissen überhaupt möglich ist, erscheinen um ein vielfaches günstiger. Werden doch nicht nur einige wenige willkürlich unter fast gleichartigen herausgegriffene Infusorien zur Weiterzucht verwandt, sondern automatisch erhalten und vermehren sich sämtliche den gesetzten Höchstanforderungen entsprechenden Paramäcien, aber auch nur diese.

Der Selektionseffekt kann auch noch dadurch gesteigert werden, daß man durch Hinzufügung von arseniger Säure die maxima tolerata-Dosis auf kurze Zeit etwas überschreitet, so daß dann nur noch einige wenige Paramäcien, eben die allerwiderstandsfähigsten Individuen, lebens- und vermehrungsfähig bleiben (doch kommen wir damit schließlich unter Umständen schon zu direkten Beeinflussungen der Paramäcien, wie wir sie in einem späteren Abschnitt genauer kennen lernen werden).

Der Verlauf der Experimente sei zunächst an einer mit dem Stamme A 1911 durchgeführten Versuchsreihe genauer beschrieben:

Der Klon A vertrug bei zahlreichen während der Monate Januar und Februar angestellten Vorversuchen noch gerade eine 0,8—0,9proz. Lösung von arseniger Säure. Durch eine 1proz. Konzentration wurde er regelmäßig innerhalb von achtundvierzig Stunden vollständig abgetötet<sup>1)</sup>. Am 2. März wurden nun zwei Abzweigungen dieser Linie in eine 0,9proz. Lösung von arseniger Säure gebracht und bis zum 4. März darin belassen. In den ursprünglich sehr üppigen Kulturen

<sup>1)</sup> Es sei nochmals darauf hingewiesen, daß die Prozentangaben sich immer auf die von mir verwandte  $\frac{1}{10}$  n-Lösung von arseniger Säure als Norm beziehen. Die 1proz. gerade tödlich wirkende Konzentration war also =  $\frac{1}{1000}$  n-Lösung von arseniger Säure usw.

waren am 4. März nur noch einige wenige Paramäcien am Leben, die alsdann in arsenfreies Salatwasser zurückversetzt wurden. Sie vermehrten sich hierin intensiv, so daß am 11. März beide Kulturen wiederum von Paramäcien wimmelten. Abermals wurden diese Infusorien nunmehr für die Zeit vom 11. bis 13. März der Wirkung der 0,9proz. arsenigen Säure ausgesetzt, und abermals wurden hierdurch die Paramäcien äußerst dezimiert. Vom 13. bis 20. März kamen die Überlebenden dann wieder in arsenfreies Salatwasser, vom 20. bis 22. in 0,9proz. arsenige Säure, vom 22. bis 29. in arsenfreies Salatwasser, am 30. und 31. März in 0,9proz. arsenige Säure, vom 1. bis 8. April in Salatwasser, am 9. und 10. wieder in 0,9proz. arsenige Säure, vom 11. bis 18. April in arsenfreies Salatwasser und für den 19. und 20. April schließlich ein sechstes Mal in die 0,9proz. arsenige Säure. Nachdem alsdann am 20. April die Kulturen in die normale Nährlösung zurückversetzt worden waren und sich hernach hierin üppig vermehrt hatten, wurde am 30. April eine neue Prüfung ihrer Widerstandsfähigkeit gegenüber der arsenigen Säure vorgenommen, und es erwies sich hierbei, daß die sechsmal der Selektion durch die 0,9proz. arsenige Säurelösung unterworfen gewesenen Paramäcien, genau wie die während dieser ganzen Zeit in normalem arsenfreien Salatwasser parallel weitergeführten Infusorien des Klonen A, durch die 1proz. Lösung der arsenigen Säure restlos abgetötet wurden. Das gleiche Ergebnis hatten auch Prüfungen, die am 10. und 20. Mai mit den genannten verschiedenen Zweigkulturen von A angestellt wurden. Die 1proz. arsenige Säurelösung war für alle Zweige, gleichgültig ob sie mit oder ohne Selektion geführt worden waren, unbedingt tödlich!

Im wesentlichen das gleiche Bild zeigten auch die gleichgerichteten Versuche mit den Stämmen B, C, D, M, IV und  $\alpha$ . Aus den Tabellen 3 und 4 geht ohne weiteres hervor, daß nirgends durch Selektion eine merkliche dauernde Steigerung der Widerstandsfähigkeit gegenüber arseniger Säure erzielt wurde.

### 3. Temperaturversuche.

Das gleiche negative Ergebnis zeitigten auch alle Selektionsversuche, bei denen statt der arsenigen Säure extreme Temperaturen verwandt wurden. Wie wir gesehen hatten, ist das Maximum und Minimum der Temperatur, bei der die Paramäcien gedeihen können, für verschiedene Rassen nicht unwesentlich verschieden. Es lag somit nahe, zu versuchen, diese Kardinalpunkte durch selektive Zucht

Tabelle 3. Selektionsversuche.

Stämme	A	B	c	D	M	IV	$\alpha$
Maxima tolerata-Dosis von arseniger Säure in Salatwasser	0,8—0,9%	1,0%	1,1%	0,7%	0,3%	0,85—1%	0,9%
Konzentration der zur Selektion verwandten Lösung	0,9%	1%	1,1%	0,7%	0,2—1%	1—2%	0,9—1,5%
Zahl der ganz durchgeführten Versuche	2	3	2	3	4	5	7
Zahl der Selektionsperioden bei jedem Versuche	6, 8	6, 8, 10	6, 10	3, 6, 20	6, 8, 10, 10	20, 6 10, 10 10	6, 6, 6 10, 10 10, 50

Genauere Daten zum Versuch 7 mit Stamm  $\alpha$ .

Die Kulturen wurden in arsenige Säurelösung versetzt am:

15./16., 25./26. Januar 1911	1./2., 10./11., 20./21., 30./31. Oktober
4./5., 11./12., 20./21., 27./28. Februar	8./9., 17./18., 27./28. November
7./8., 18./19., 27./28. März	7./8., 17./18., 22./24. Dezember
6./7., 15./16., 25./26. April	7./8., 17./19., 26./27. Januar 1912
5./6., 15./16., 25./26. Mai	3./4., 12./13., 22./23. Februar
4./5., 13./14. Juni	2./3., 12./13., 22./23., 30./31. März
10./11., 20./24. Juli	8./9., 18./19., **) 28./29. April
4./5., 13./14., 23./24. September*)	5./6., 14./15., 23./24. Juni
	30. Juni/2. Juli, 8./10. Juli 1912.

\*) Am 24. September abgezweigt Stamm  $\alpha$  7 a, in arsenfreiem Salatwasser weitergeführt.

\*\*) Am 18. April 1912 abgezweigt Stamm  $\alpha$  7 b, in arsenfreiem Salatwasser weitergeführt.

Zur Selektion verwandt wurde eine 0,9 proz. Lösung (unserer Stammkonzentration) in Salatwasser, die am 26. Mai, 11. Juli, 31. Oktober und 18. Dezember 1911 für 12 Stunden auf 1 Proz. gesteigert wurde, am 26. Januar 1912 für 24 Stunden auf 1 Proz., am 15. Juni 1912 für 3 Stunden auf 1,5 Proz. und am 23. September 1911 für 5 Stunden auf 1,5 Proz.

nach oben und unten zu verschieben. Aus technischen Gründen (da mir keine nach Bedarf umregulierbaren Thermostaten für die in Frage kommenden niederen Temperaturen zur Verfügung standen und da ja eine konstante niedere Temperatur überhaupt erheblich schwerer dauernd zu erhalten ist, als eine über Zimmerwärme gelegene) beschränkte ich mich auf Selektion durch höhere Temperaturen.

Kulturen der Linie A, deren Maximaltemperatur bei Zucht in Salatwasser bei 29° lag, wurden von Oktober bis Dezember 1911

Tabelle 4.

Prüfung des Verhaltens der Kulturen nach Abschluss der Selektionsversuche (vgl. Tabelle 3).  
 a) Prüfung angesetzt 8 Tage nach der letzten Selektionsperiode. b) 6 Wochen später.  
 Angegeben ist immer der Stand am 5. Tage nach Versetzung in arsenige Säure.

Konzentration: Stamm und Versuch	0,3		0,5		0,7		0,8		0,9		1,0		1,2		1,5		2,0	
	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b
A 1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
A 2	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
B 1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
B 2	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
B 3	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
C 1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
C 2	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
D 1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
D 2	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
D 3	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
D 4	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
M 1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
M 2	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
M 3	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
M 4	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
IV A 1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
IV A 2	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
IV A 3	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
IV A 4	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
IV A 5	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
a 1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
a 2	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
a 3	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
a 4	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
a 5	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
a 6	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
a 7a	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
a 7b	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
a 7	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Es bedeutet auf dieser wie auf allen folgenden Tabellen:

- 0 = Kultur unverändert.
- + = Zahl der Infusorien etwas verringert.
- ++ = Kultur unverändert.
- +++ = Zahl der Infusorien stark verringert.
- ⊕ = Der größte Teil der Infusorien abgetötet.
- ⊕⊕ = Nur noch einzelne (bis 10) Infusorien am Leben.
- ⊕⊕⊕ = Alles abgetötet.

regelmäßig alle vierzehn Tage aus der Zimmertemperatur, bei der ich sie ständig hielt, auf drei Tage in 28°, alsdann von Januar bis April 1912 alle vierzehn Tage auf fünf Tage in 29° versetzt, Temperaturen, bei denen regelmäßig eine Anzahl der Paramäcien abstarb. Ende April 1912 wurden die Zuchten, die sechs Perioden bei 28° und sieben in 29° durchgemacht hatten, zum Teil unmittelbar aus 29°, zum anderen Teil nach einem weiteren achttägigen Aufenthalt bei Zimmertemperatur (etwa 18°), der Temperatur von 30° ausgesetzt, — und ganz wie der ständig bei Zimmertemperatur geführte Hauptzweig der Linie A starben sie hierin innerhalb von vierzehn Tagen vollständig aus.

Ebenso erfolglos war auch ein weiterer Versuch, bei dem eine Zweigkultur von A von Januar bis März 1912 dauernd bei 29° gehalten und alle vierzehn Tage für achtundvierzig Stunden in 30° versetzt wurde. Bei jedem solchen Aufenthalt erschienen die Zuchten beträchtlich dezimiert, die überlebenden Infusorien vermehrten sich aber nach Zurückversetzung in 29° meist ganz leidlich. Am 30. März 1912 wurde diese Zucht zum sechstenmal aus 30° in 29° zurückversetzt, hierin bis zum 9. April weitergeführt und dann zur Prüfung auf eine durch diese wiederholten Selektionen etwa erzielte Anpassung an höhere Temperatur zum Teil in 30°, zum Teil in 32° gebracht. Aber auch in diesem Falle starben sämtliche Paramäcien in beiden Thermostaten innerhalb von längsten zwölf Tagen aus, ganz wie die zur Kontrolle unmittelbar aus Zimmertemperatur unter die gleichen Bedingungen versetzten Zuchten des unvorbehandelten Ausgangsstammes A.

Das gleiche negative Ergebnis hatten auch zwei mit der Linie M durchgeführte Versuchsreihen, bei denen die Infusorien sechsmal aus Zimmertemperatur auf fünf Tage in 35° bzw. zehnmal aus 35° für vierundzwanzig Stunden in 37° kamen. Obwohl besonders bei der letztgenannten Versuchsreihe die Zuchten mehrmals bis auf wenige Individuen abgetötet worden waren, also eine äußerst intensive Selektion stattgefunden hatte, wurden auch in diesen Fällen sämtliche Paramäcien in gleicher Weise wie die unbehandelten bei Versetzung in 36° innerhalb von acht Tagen abgetötet, gleichgültig, ob die Übertragung aus Zimmertemperatur oder aus 35° erfolgte. Und ebenso negativ verliefen endlich auch entsprechende Versuche mit den Klonen  $\alpha$  und B. Wohl verzögerte sich gelegentlich bei diesen, wie auch bei den zuvor geschilderten Experimenten, das Aussterben vorbehandelter Zuchten gegenüber den ständig bei Zimmertemperatur gehaltenen Parallelkulturen um einige Tage, aber

niemals konnte auch durch noch so intensiv und häufig wiederholte Selektion der wärmeresistentesten Individuen auf diesem Wege eine Verschiebung der zuvor festgestellten Grenztemperaturen erzielt werden, bei denen die betreffenden Stämme noch dauernd lebensfähig blieben.

Dieses negative Ergebnis erscheint uns eben wegen des sehr großen Materials, an dem die Versuche angestellt werden konnten — (jede der verwandten Kulturen enthielt viele tausende von Paramäcien, und es wurden im Laufe der Zeit, wie die Tabellen 3 u. 4 zeigen, schon allein mit arseniger Säure sechszwanzig Selektionsexperimente, darunter zwei mit zwanzig und eins mit fünfzig Selektionsfolgen, genau durchgeführt) — und wegen der eingangs auseinandergesetzten, für das Erkennen einer Selektionswirkung ungewöhnlich günstigen Verhältnisse bei unserer Versuchsanordnung besonders bemerkenswert. Es steht also vollauf in Übereinstimmung mit den grundlegenden Untersuchungen von JOHANNSEN und den alten Feststellungen von JENNINGS, wonach Selektion innerhalb einer reinen Linie keinerlei Wirkung hat. Dagegen widerspricht unser Befund durchaus den während der letzten Jahre veröffentlichten Untersuchungen von JENNINGS und seinen Schülern, die an verschiedenen Objekten schon bei unter wesentlich ungünstigeren Umständen und an einem unvergleichlich kleinerem Material durchgeführten Selektionsversuchen jetzt ständig auch innerhalb eines Klones erbliche Veränderungen erzielt sehen wollen. An dieser Stelle sei nur auf diesen vorhandenen Widerspruch hingewiesen; eine Diskussion und den Versuch einer Deutung der neueren Ergebnisse von JENNINGS wollen wir erst nach der Darstellung weiterer eigener Beobachtungen vornehmen.

## B. Gewöhnungsversuche.

### 1. Gewöhnung an arsenige Säure.

Die Versuche, durch Selektion extremer Varianten eine Verschiebung der Reaktionsnorm unserer Paramäcien zu erzielen, waren somit fehlgeschlagen. Wohl konnten wir mit Hilfe unserer intensiven Zuchtwahlmethode aus Populationen die gegenüber der arsenigen Säure oder hohen Temperaturen widerstandsfähigsten Linien rasch herausisolieren; innerhalb einer Individuallinie dagegen erwies sich auch noch so oft wiederholte Selektion als machtlos, — ganz wie in den bekannten Versuchen von JOHANNSEN.

Nun lag aber gerade auf dem Gebiete der Arsenfestigung von Mikroorganismen in den schönen Arbeiten von EHRlich und seiner Schule vor allem an Trypanosomen ein großes Beobachtungsmaterial vor, das eine so starke und regelmäßig experimentell erzielbare Steigerung der Giftfestigkeit im Laufe angestellter Versuche dartat, wie man sie schwerlich allein durch Auswahl besonders resistenter Linien erklären konnte. Es erschien daher erforderlich, die Frage der Giftgewöhnung näher zu prüfen.

Zu diesem Zwecke wurden Stämme, für die die gerade noch dauernd vertragene Grenzkonzentration von arseniger Säure bereits bekannt war (vgl. die vorhergehenden Abschnitte), in eine weit untertötliche Konzentration gebracht und diese dann durch Hinzufügung von arseniger Säure allmählich gesteigert.

Zu 100 ccm einer in arsenfreiem Salatwasser geführten Kultur des Stammes A, der, wie oben angegeben, noch eine 0,8 bis 0,9proz. Konzentration meiner arsenigen Säurelösung gerade noch vertragen konnte, aber durch eine 1proz. Lösung bereits vollständig abgetötet wurde, fügte ich, beginnend mit dem 20. Januar 1911 täglich  $\frac{1}{25}$  ccm meiner Stammlösung hinzu. Trotz dieser vorsichtigen Steigerung war das Resultat, wie die Tabelle 5 zeigt, ein recht ungünstiges: Sobald die Konzentration auf 0,96 Proz. gestiegen war, starb die Kultur völlig aus. Auch vier weitere vom 1. bis 26. März, vom 5. bis 30. März, vom 10. März bis 4. April und vom 14. März bis 5. April in gleicher Weise mit Stamm A durchgeführte Versuche hatten ein durchaus negatives Ergebnis, da die Kulturen bereits ausstarben, als Konzentrationen von 0,8 Proz. bei der ersten, von 0,88 Proz. bei der zweiten und vierten und von 0,92 Proz. bei der dritten der genannten Versuchsserien erreicht worden waren.

Etwas besser waren die Gewöhnungserfolge bei der Linie  $\alpha$ , die, wie wir gesehen hatten, normalerweise noch eine Grenzkonzentration von 0,9 Proz. vertrug, aber durch eine 1proz. arsenige Säurelösung stets abgetötet wurde. Bei einem am 20. Januar parallel mit der Linie A und in gleicher Weise wie bei dieser (vgl. Tabelle 5) angesetzten Versuche konnten die Kulturen noch bei einer Konzentration von 1,28 Proz. geführt werden. Bei einer zweiten, im Februar begonnenen Versuchsreihe, bei der mit einer Konzentration von 0,5 Proz. angefangen und in dreitägigen Abständen 0,04 Proz. arseniger Säure hinzugefügt wurde, gelang es, eine Gewöhnung bis an 1,3 Proz. zu erzielen. Bei einer täglichen Steigerung von durchschnittlich nur 0,02 Proz. endlich starben die Paramäcien erst bei einer Konzentration von 1,36 Proz. ab (vgl. Tab 6). In



Tabelle 5.  
Gewöhnungsversuche.

Datum	Konzentration der Lösung %	Verhalten von		
		A	$\alpha$	
20. Januar	0,04	0	0	
21. "	0,08	0	0	
22. "	0,12	0	0	
23. "	0,16	0	0	
24. "	0,2	0	0	
25. "	0,24	0	0	
26. "	0,28	0	0	
27. "	0,32	0	0	
28. "	0,36	0	0	
29. "	0,4	+	0	
30. "	0,44	+	0	
31. "	0,48	+	0	
1. Februar	0,52	+	+	
2. "	0,56	+	+	
3. "	0,6	+	+	
4. "	0,64	+	+	
5. "	0,68	++	+	
6. "	0,72	+++	++	
7. "	0,76	++++	+++	
8. "	0,8	++++	++++	
9. "	0,84	++++	++++	
10. "	0,88	++++	++++	
11. "	0,92	++++	++++	
12. "	0,96	⊕?	++++	
13. "	1,00	⊕	++++	
14. "	1,04	—	++++	
15. "	1,08	—	++++	
16. "	1,12	—	++++	
17. "	1,16	—	++++	
18. "	1,2	—	++++	
19. "	1,24	—	++++	
20. "	1,28	—	++++	
21. "	1,32	—	⊕	→ Vermehrt sich bei Versetzung in arsenfreies Salatwasser nach einer Zeit intensiv.
22. "	1,32	—	⊕	
23. "	1,32	—	⊕	
24. "	1,32	—	⊕	

Tabelle 6.

Datum	Konzentration der Lösung %	Verhalten der Stämme			M	
		$\alpha$	B	Z		
5. März	0,5	0	0	0	0,1	0
6. "	0,52	0	0	0	0,12	0
7. "	0,54	0	0	0	0,14	0
8. "	0,56	0	0	0	0,16	0
9. "	0,58	0	0	0	0,18	+
10. "	0,6	+	0	0	0,2	+
11. "	0,62	+	0	0	0,22	+
12. "	0,64	+	0	0	0,24	+
13. "	0,68	+	0	+	0,26	+
14. "	0,7	+	0	+	0,28	++
15. "	0,72	+	0	+	0,3	++

Datum	Konzentration der Lösung %	Verhalten der Stämme			M	
		α	B	Z		
16. März	0,74	+	0	+	0,32	++
17. "	0,76		0		0,34	++
18. "	0,78	++	0	+	0,36	++
19. "	0,8	++	0	+	0,38	++
20. "	0,82	++	0		0,4	++
21. "	0,84	++	+	++	0,42	++
22. "	0,86	++	+	++	0,44	++
23. "	0,88	++	+	++	0,46	++
24. "	0,9	++	+	++	0,48	++
25. "	0,92	++	+	++	0,5	++
26. "	0,94	++	+	++	0,52	⊕
27. "	0,96	++	+	++		
28. "	0,98	++	+	++		
29. "	1,00	++	+	++		
30. "	1,02	++	+	++		
31. "	1,04	++	+	++		
1. April	1,06	++	+	++		
2. "	1,08	++	+	++		
3. "	1,10	++	+	++		
4. "	1,12	++	+	++		
5. "	1,14	++	+	++		
6. "	1,16	++	+	++		
7. "	1,18	++	+	++		
8. "	1,2	++	+	++		
9. "	1,22	++	+	++		
10. "	1,25	++	+	++		
11. "	1,28	++	+	⊕		
12. "	1,3	++	+	++		
13. "	1,32	++	+	++		
14. "	1,34	⊕	+	++		
15. "	1,36	⊕	+	++		
16. "	1,38	⊕	+	++		
17. "	1,4	++	+	++		
18. "	1,42	++	+	++		
19. "	1,44	++	+	++		
20. "	1,46	++	+	++		
21. "	1,48	++	+	++		
22. "	1,5	++	+	++		
23. "	1,52	++	+	++		
24. "	1,55	++	+	++		
25. "	1,58	++	+	++		
26. "	1,6	++	+	++		
27. "	1,62	++	+	++		
28. "	1,64	++	+	++		
29. "	1,66	++	+	++		
30. "	1,7	++	+	++		
1. Ma	1,72	++	+	++		
2. "	1,74	++	+	++		
3. "	1,76	++	+	++		
4. "	1,78	++	+	++		
5. "	1,8	++	+	++		
6. "	1,82	++	+	++		
7. "	1,84	++	+	++		
8. "	1,86	++	+	++		
9. "	1,88	++	+	++		
10. "	1,9	++	+	++		
11. "	1,92	++	+	⊕		
12. "	1,92	++	+	⊕		

Abzweigung wird bis zum 20. April in 1,2 belassen, dann in arsenfreiem Salatwasser weitergeführt.

) Abzweigung wird bis zum 20. April in 1,32 belassen, dann in arsenfreiem Salatwasser weitergeführt, wo starke Vermehrung einsetzt.

→ Abzweigung wird bis 15. Mai in 1,9 belassen, dann in arsenfreies Salatwasser gebracht, wo eine starke Vermehrung einsetzt.

ähnlicher Weise ließen sich Stamm Z, der sonst durch 0,8 Proz. regelmäßig abgetötet wurde, bis an 1,25 Proz. und Stamm M mit der normalerweise äußerst niedrigen Grenzkonzentration von 0,3 Proz. bis an 0,5 Proz. der verwandten arsenigen Säure gewöhnen (s. Tab. 6). Die größte Steigerung endlich wurde bei Linie B erreicht, die ohne Gewöhnung stets einer 1,1proz. Lösung erlag und sich bei langsamer Steigerung der Arsenkonzentration, wie unsere Tabelle 6 zeigt, schließlich noch in einer 1,9proz. Lösung weiterzüchten ließ, ohne erkennbar geschädigt zu werden. —

Eine gewisse, wenn auch nicht sehr bedeutende Steigerung der Widerstandsfähigkeit der Paramäcien war somit in einigen Fällen erzielt worden. Welche vererbungstheoretische Bedeutung kommt nun aber diesen durch Gewöhnung hervorgerufenen Änderungen der Arsenresistenz unserer Klone zu? Zur Aufklärung dieser Frage wurden die an die höchsten Konzentrationen gewöhnten Paramäcien — von Klon B aus 1,9 Proz. und von Klon  $\alpha$  aus der 1,32proz. arsenigen Säurelösung (Paramäcien aus der 1,34proz. Lösung standen mir nicht mehr zur Verfügung) — in arsenfreies Salatwasser gebracht, darin eine Woche weitergeführt und alsdann von neuem in ihrem Verhalten gegenüber der arsenigen Säure geprüft. Hierbei ergab sich nun ausnahmslos, daß die zuvor an Arsen gewöhnten Paramäcien nicht mehr eine erhöhte Widerstandsfähigkeit gegenüber der arsenigen Säure im Vergleich zu unbehandelten Kulturen des gleichen Klones besaßen. So wurde, wie Tabelle 7 zeigt, die zuvor allmählich an 1,9 Proz. gewöhnte Zweigkultur von B nach Weiterführung in arsenfreiem Medium wiederum schon durch die 1,1proz. Lösung vollständig abgetötet; und die an 1,32 Proz. gewöhnten Paramäcien des Klones  $\alpha$  waren dann sogar etwas weniger resistent, als die nicht zuvor der Wirkung der arsenigen Säure ausgesetzt gewesenen Kontrollkulturen dieser Individuallinie.

Die an die arsenige Säure gewöhnten Paramäcien besaßen eine etwas größere mittlere Länge und Breite als die in arsenfreiem Salatwasser gezogenen Kulturen der gleichen Klone. Nach Zurückversetzung in das normale Kulturmedium ging mit der Gewöhnung auch der Größenunterschied in wenigen Tagen verloren.

Diese Ergebnisse zeigen uns somit mit aller Deutlichkeit, daß auch durch die allmähliche Gewöhnung unserer Infusorien keinerlei Veränderung der Erbanlagen, keine erbliche Umstimmung der Reaktionsnorm hervorgerufen wurde. Es handelt sich bei all diesen Erscheinungen ausschließlich um Modifikationen.

Tabelle 7.  
Gewöhnungsversuche.

Stamm	Datum des Versuchs	Verhalten 8 Tage nach Versetzung in eine Lösung arseniger Säure von %														
		0,5	0,75	0,8	0,9	1,0	1,1	1,2	1,3	1,4	1,5	1,6	1,7	1,8	1,9	2
α bis an 1,32 % gewöhn- t gewesen	1) 27./30. IV. 2) 12./15. V.	0	++	+++	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕
	α unbehandelte Kontrolle	0	++	+++	+++	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕
B bis an 1,9 % gewöhn- t gewesen	1) 22./25. V. 2) 5./8. VI.	0	++	++	+++	+++	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕
	B unbehandelte Kontrolle	0	++	++	+++	+++	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕
Z bis an 1,2 % gewöhn- t gewesen	1) 27./30. IV. 2) 12./15. V.	0	+++	+++	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕
	Z unbehandelte Kontrolle	0	+++	+++	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕

## 2. Gewöhnung an höhere Temperaturen.

Im Prinzip mit den Gewöhnungen an die arsenige Säure übereinstimmend war auch das Ergebnis der daneben ausgeführten Versuche, Klone der Paramäcien durch Gewöhnung an eine höhere Temperatur dauernd umzustimmen. So war die Linie A, die, wie wir sahen, noch bei einer Maximaltemperatur von 29° dauernd kultiviert werden konnte, auf keine Weise auch nur an 30° zu gewöhnen, obwohl dies in einer sehr großen Anzahl von Experimenten auf die verschiedenste Weise ausgeprobt wurde. Unter anderem hielt ich zwei Kulturen von A in fünf Fällen einen bis sechs Monate dauernd bei 29°, um dann Abzweigungen hieraus alle vierzehn Tage in 30° zu versetzen; eine dauernde Weiterzucht in 30° gelang niemals. Und auch als ich einen kleinen, relativ leicht umregulierbaren Thermostaten verwandte, bei dem nach einigen Vorversuchen mit ziemlicher Sicherheit langsame Steigerungen der Temperatur von 28° bis auf 30° hervorgebracht werden konnten, gelang keine Anpassung an 30°. Die derart vorbehandelten Paramäcien hielten sich wohl in einzelnen Fällen etwas länger, als es sonst bei dieser Temperatur für den Stamm A üblich war; nach spätestens drei Wochen waren sie aber stets sämtlich ausgestorben.

Etwas günstiger waren die Ergebnisse bei den Stämmen B, M und  $\alpha$ : Linie B, die normalerweise ein Temperaturmaximum von 32° ertrug, konnte zweimal, nachdem sie einen Monat eben bei 32° gehalten worden war, noch in 35° drei Monaten lang weitergezüchtet werden, ohne daß erkennbare Schädigungen auftraten (der Versuch wurde alsdann abgebrochen). Entsprechend gelang es, Linie M, für die die Maximaltemperatur bei 35° lag, einmal nach dreiwöchiger Zucht in 32° und allmählicher Steigerung der Temperatur mit Hilfe des zuvor erwähnten umregulierbaren Brutschrankes an 36° zu gewöhnen. Wurde die Temperatur dagegen von 36° auf 37° gesteigert, so gingen die Infusorien regelmäßig innerhalb von wenigen Tagen zugrunde.

Linie  $\alpha$  endlich konnte nach zahlreichen fehlgeschlagenen Gewöhnungsversuchen schließlich doch mehrmals nach vier- bis sechswöchiger Kultivierung in 37°, der für diese Linie sonst maximalen Temperatur, über 38° bis an 39° angepaßt werden.

Die Verschiebung der Grenztemperatur war somit in allen Fällen relativ geringfügig, besonders wenn man bedenkt, daß innerhalb der von vornherein vertragenen Temperaturbreiten auch recht extremer Temperaturwechsel von den Paramäcien leidlich gut aus-

gehalten wird. Konnte doch Linie  $\alpha$  z. B. unmittelbar aus  $6^\circ$  in  $37^\circ$  übertragen werden, Linie M aus  $12^\circ$  in  $35^\circ$ , Linie B aus  $8^\circ$  in  $32^\circ$  und Linie A aus  $12^\circ$  in  $29^\circ$ ! (Die Zuchten werden zwar bei solch schroffem Temperaturwechsel meist erheblich mitgenommen, gehen dabei aber nur sehr selten ganz ein.)

Und auch die geringfügige, durch langsame Gewöhnung erzielte Verschiebung der maximalen vertragenen Temperatur ging meinen Paramäcienklonen nach Versetzung in normale Kulturbedingungen sehr rasch verloren. Die an  $36^\circ$  gewöhnten Paramäcien der Linie M und ebenso die an  $35^\circ$  angepaßten Kulturen der Linie B wurden nach Zurückversetzung und achttägiger Weiterführung in Zimmertemperatur bei Neuübertragung in  $37$  bzw.  $35^\circ$  innerhalb einer Woche wieder vollständig abgetötet, ganz genau wie unbehandelte Individuen der gleichen Linie. Und auch bei den an  $39^\circ$  angepaßten Paramäcien der Linie  $\alpha$  finden wir, wenn man sie auf acht Tage in Zimmertemperatur oder auf vierzehn Tage in  $37^\circ$  versetzte und alsdann wieder in  $39^\circ$  oder auch nur in  $38^\circ$  zurückbrachte, keinerlei Unterschied mehr gegenüber den ständig bei Zimmertemperatur gehaltenen Zuchten von  $\alpha$ ; denn ausnahmslos gingen sie innerhalb von längstens vierzehn Tagen auch schon bei  $38^\circ$  wieder ein. Auch in allen diesen Fällen handelt es sich somit, vererbungstheoretisch betrachtet, nur um gewöhnliche Modifikationen.

### C. Dauermodifikationen.

#### 1. Festigungen gegen arsenige Säure.

Während nun bei den durch langsame Gewöhnung erzielten Modifikationen die beobachtete Resistenzsteigerung nur verhältnismäßig geringfügig war, konnte durch ein anderes Vorgehen in einer ganzen Reihe von Versuchsserien eine erheblich stärkere und offenbar etwas anders geartete Giftfestigung der verwandten Infusorien erreicht werden:

Bei diesen Versuchen wurden die Paramäcien während einer Reihe von Wochen oder Monaten der Einwirkung einer sicher noch unschädlichen Konzentration unserer arsenigen Säure ausgesetzt (im allgemeinen wurde etwa die Hälfte oder ein Drittel der für die betreffende Individuellinie gerade tödlichen Konzentration gewählt), die ich dann von Zeit zu Zeit vorübergehend auf eine normalerweise übertödliche Konzentration steigerte. Das Vorgehen knüpft also an

das bei den Selektionsversuchen gelegentlich verwandte Verfahren an (vgl. S. 23). Während aber bei den Selektionsversuchen die übertödlichen Dosen nur wenige Stunden einwirken durften, wurden bei den jetzt zu schildernden Abänderungsexperimenten die Paramäcien umgekehrt möglichst lange der Wirkung der überstarken Giftlösungen ausgesetzt. In der überdosierten Arsenlösung, aber auch noch nach Zurückversetzung in die unschädliche Konzentration, geht weitaus der größte Teil der Infusorien zugrunde. Die überlebenden läßt man sich einige Zeit vermehren, bis wieder üppige Kulturen vorliegen, die dann von neuem der Einwirkung übertödlicher Konzentrationen der arsenigen Säure ausgesetzt werden. Die Stärke der Lösung und die höchst zulässige Einwirkungsdauer sind bei jedem Stamme, ja weiterhin auch im Laufe langdauernder Versuche bei zu verschiedener Zeit behandelten Kulturen eines und desselben Stammes nicht genau festzulegen, sondern müssen stets neu ausprobiert werden; zeigte sich doch gerade im Verlaufe dieser ausgedehnten Versuchsreihen ein gewisses Unempfindlichwerden jahrelang im Laboratorium fortgezüchteter Stämme. So konnten z. B. die Kulturen des Stammes  $\alpha$  im Jahre 1911 im allgemeinen nicht länger als 24 Stunden einer 2proz. Lösung meiner arsenigen Säure ausgesetzt werden, wenn man überhaupt noch ein lebendes *Paramecium* antreffen wollte. 1913 dagegen konnte ich den gleichen, stets in arsenfreiem Salatwasser weitergeführten Stamm auch 48 Stunden, gelegentlich selbst 72 Stunden in 2proz. arseniger Säure belassen. Die dauernd vertragene Höchstkonzentration betrug aber während der ganzen Beobachtungszeit in Salatwasser unverändert 0,9 Proz.

Versuche mit derartigen übertödlichen Konzentrationen müssen natürlich von vornherein mit großen Verlusten und Fehlschlägen rechnen. Verhältnismäßig kleine Steigerungen der Konzentration oder Einwirkungsdauer der Giftlösung können leicht zur Vernichtung wertvollster Zuchten führen. Es erwies sich daher als dringend erforderlich, stets mehrere Parallelkulturen anzulegen und diese vor jeder Einwirkung der übertödlichen Konzentration mehrmals zu teilen. Trotz aller Vorsichtsmaßregeln ging aber doch ein großer Teil dieser Zuchten im Laufe der Versuche zugrunde; es stellen also die im folgenden mitzuteilenden positiven Ergebnisse solcher Beeinflussungsexperimente nur einen kleinen Prozentsatz der überhaupt durchgeführten Versuchsreihen dar, und auch bei ihnen sind in den Protokollen die im Verlaufe der Versuche ausgestorbenen Abzweigungen nicht aufgenommen. —

Die Versuche, Klone meiner Paramäcien durch möglichst lange Einwirkung übertödlicher Konzentrationen von arseniger Säure abzuändern, wurden in erster Linie durch eine bei den zuvor beschriebenen Selektionsexperimenten gemachte Beobachtung veranlaßt. Stamm A, der normalerweise eine Höchstkonzentration von 0,8 bis 0,9 Proz. meiner arsenigen Säure vertragen konnte, wurde im November 1910 zunächst einmal, ganz wie wir es bei den Selektionsversuchen beschrieben haben, auf drei Tage in 0,9proz. arsenige Säurelösung versetzt und dann in arsenfreies Salatwasser zurückgeführt. Nachdem dort wieder eine starke Vermehrung erfolgt war, brachte ich die Paramäcien, um die Selektion gleich möglichst intensiv zu gestalten, in eine 1,1proz. Lösung der arsenigen Säure. In dieser etwas übertödlichen Konzentration blieben die Infusorien versehentlich nicht nur einige Stunden, sondern etwas über zwei Tage. Bei einer Prüfung fanden sich alsdann in der Kultur noch etwa zehn bis fünfzehn lebende Paramäcien, die in arsenfreies Salatwasser zurückversetzt wurden und sich darin in den nächsten acht Tagen intensiv vermehrten. Zwölf Tage nach der Zurückversetzung in die normalen Kulturbedingungen, am 3. Dezember 1910, stellte sich bei einer Prüfung der Arsenresistenz der Kultur heraus, daß diese Infusorien noch eine Konzentration von 1,25 Proz. dauernd ohne erkennbare Schädigung vertragen konnten. Das gleiche Ergebnis hatten auch weitere zunächst am 10. Dezember 1910 sowie am 21. Januar 1911 vorgenommene Prüfungen. Offenbar unter dem Einflusse der langen Einwirkung einer primär übertödlichen Giftkonzentration war es hier also zu einer nicht ganz unbeträchtlichen Steigerung der Widerstandsfähigkeit eines Klones gegenüber arseniger Säure gekommen, die auch nach Fortfall der veränderten Außenbedingungen erhalten blieb.

Hatten wir es hier nun wirklich mit den gesuchten erblichen Umstimmungen der Reaktionsnorm zu tun? war hier durch die veränderten Außenbedingungen eine dauernd, eine genotypisch veränderte Rasse entstanden? Zur Aufklärung dieser Fragen war es natürlich erforderlich, einmal das Schicksal der veränderten Paramäcien weiter zu verfolgen, sodann aber auch zu versuchen, in gleicher oder ähnlicher Weise innerhalb von Klonen weitere Umstimmungen der Reaktionsnorm zu erzielen.

Das spätere Verhalten der abgeänderten Zweigkultur von A ist rasch beschrieben:

Während noch am 21. Januar und auch am 4. Februar 1911 die Paramäcien in 1,25proz. arseniger Säure gehalten werden konnten,



wurden sie schon bei der nächsten, am 25. Februar vorgenommenen Prüfung wieder durch eine 1proz. Lösung restlos abgetötet, ebenso bei weiteren Untersuchungen am 5., 15. und 30. März. Sie unterschieden sich somit nicht mehr von dem unbehandelten Ausgangsstamme A.

Wir haben es hier also mit Veränderungen zu tun, die zwar über 2 Monate nach Ausschaltung der umstimmenden Außenfaktoren bei reger vegetativer Vermehrung erhalten blieben, dann aber vollständig schwanden. Ehe wir auf die Bedeutung dieser Umstimmungen näher eingehen, ist es erforderlich, weitere in gleicher Richtung gemachte Beobachtungen genauer zu schildern:

Es gelang im Laufe der Zeit mit dem eingangs beschriebenen Verfahren der Verwendung übertödlicher Konzentrationen noch in mehreren Fällen, entsprechende, ja sogar weit erheblichere Steigerungen der Widerstandsfähigkeit von Klonen von *Paramäcién* zu erzielen. Bei vier von meinen Stämmen — A, B, Z und  $\alpha$  — konnten derartige Abänderungen zum Teil mehrere Male ausgelöst werden. Andere Rassen (M, IV, D, C) sowie sämtliche untersuchten Stämme von *Paramaecium aurelia* erwarben dagegen keine höheren Grade von Arsenresistenz.

Bei der Bedeutung, die diesen Erscheinungen wohl zukommt, ist es wohl am zweckmäßigsten, das gesamte hierüber vorliegende Untersuchungsmaterial an Hand der ausführlichen Protokolle zu verfolgen. Zuvor sei jedoch noch festgestellt, daß die giftfesten *Paramäcién* sich in keinem der sonst geprüften Charaktere von ihrem Ausgangsstamme unterschieden. Weder die Temperaturgrenzen noch die mittlere Größe erschien abgeändert, ein Umstand, der im Hinblick auf die bei den an arsenige Säure allmählich gewöhnten Infusorien beobachtete Größensteigerung besonders hervorgehoben werden muß.

Protokoll 1 zeigt uns das Zustandekommen einer sehr starken Steigerung der Arsenresistenz bei Stamm B, Protokoll 2 bei Stamm  $\alpha$ , Protokoll 3 bei Stamm Z. In allen drei Fällen sehen wir nach wiederholter Einwirkung übertödlicher Dosen erhebliche Giffestigungen auftreten.

Einen der ersten Beobachtung an Stamm A vollständig analogen Fall zeigt dagegen Protokoll 4 wiederum für Stamm B: durch einmalige mehrtägige Einwirkung einer 1,5proz. Lösung von arseniger Säure wurden die wenigen überlebenden *Paramäcién* und ihre Nachkommen noch gegen eine 5proz. Konzentration gefestigt, während der unbehandelte Ausgangsstamm, wie wir sahen, schon einer 1,1proz. Lösung der gleichen arsenigen Säure sonst restlos erlag. Wie in

diesem Falle, so scheinen nach den Beobachtungen und Aufzeichnungen auch bei den übrigen Festigungen eben gerade die extremsten Bedingungen, denen nur ausnahmsweise einige wenige Individuen standhalten können, zu derartigen Umstimmungen zu führen.

## Protokoll 1.

### Dauermodifikationen.

Stamm B.

Maxima tolerata-Dosis 1,0 Proz.

Zeichenerklärung vgl. Tabelle 4 (S. 26).

Vom 1. Februar 1911 bis 14. März 1911 in 0,5 Proz.

Am 15. März bis 16. März in 1,2 Proz.

Am 16. März +++.

Die überlebenden Paramäcien werden in 0,5 Proz. zurückversetzt.

18. März. Vermehrung üppig.

23. März bis 24. März in 1,2 Proz.

24. März +++.

Die Überlebenden werden in 0,5 Proz. zurückversetzt.

28. März starke Vermehrung.

31. März auf 10 Stunden in 1,5 Proz., dann zurück in 0,5 Proz.

1. April nur noch vereinzelte Paramäcien am Leben.

7. April starke Vermehrung.

10. April auf 12 Stunden in 1,5 Proz., dann zurück in 0,5 Proz.

11. April nur noch vereinzelte Paramäcien am Leben.

16. April starke Vermehrung.

18. April auf 10 Stunden in 2 Proz., dann zurück in 0,5 Proz.

19. April nur 4 lebende Paramäcien gefunden.

26. April starke Vermehrung erfolgt.

1. Mai auf 12 Stunden in 2,5 Proz., dann zurück in 0,5 Proz.

2. Mai nur noch vereinzelte Individuen am Leben.

7. Mai starke Vermehrung erfolgt.

8. Mai auf 2 Stunden in 3 Proz., dann zurück in 0,5 Proz.

9. Mai ++ bis +++.

13. Mai starke Vermehrung erfolgt.

15. Mai auf 12 Stunden in 2 Proz., dann zurück in 0,5 Proz.

16. Mai +.

23. Mai auf 24 Stunden in 2,5 Proz., dann zurück in 0,5 Proz.

25. Mai + bis ++.

27. Mai sehr gut gewachsene Kulturen.

Es wird jetzt eine Prüfung der Resistenz gegenüber  $As_2O_3$  angestellt:

Proz.	0,5	1,0	1,1	1,25	1,5	2,0	2,5	5,0	7,5
28. Mai	0	0	0	0	+	+	++	++	⊕
29. "	0	0	0	+	+	++	++	++	—
30. "	0	+	0	+	+	++	++	++	—
31. "	0	+	+	+	+	++	++	++	—
5. Juni	0	+	+	+	+	++	++	++	—
10. "	0	+	+	+	++	++	++	++	—
15. "	0	+	+	+	++	++	++	⊕	—

28. Mai. Die Paramäcien werden aus der 0,5 proz.  $As_2O_3$ -Lösung in arsen-freies Salatwasser gebracht, hierin von nun an dauernd gehalten bei 31°.

3. Juni. Prüfung der Arsenresistenz (an einer Probe): •

Proz.	0,5	1,0	1,5	2,0	2,5	3,0	3,5	4,0	4,5	5,0	5,5
4. Juni	0	0	0	+	+	+	+	+	++	++	⊕
5. "	0	0	0	+	++	++	++	++	++	++	—
6. "	0	0	+	+	++	++	++	++	++	++	—
9. "	0	0	+	+	++	++	++	++	++	++	—
10. "	0	0	+	+	++	++	++	++	++	++	—
12. "	0	0	+	+	++	++	++	++	++	⊕	—
15. "	0	0	++	++	++	++	++	++	++	—	—
20. "	0	0	++	++	++	++	++	++	++	—	—

Kontrolle B ⊕ durch 1,1 Proz.

10. Juni. Abermalige Prüfung an einer Abzweigung:

Proz.	1,0	2,0	3,0	4,0	4,25	4,5	4,6	4,7	4,8	4,9	5
11. Juni	0	+	+	+	+	+	+	++	++	++	++
12. "	0	+	+	+	+	++	++	++	++	++	++
13. "	0	+	++	++	++	++	++	++	++	++	++
15. "	0	+	++	++	++	++	++	++	++	⊕	⊕
20. "	0	++	++	++	++	++	++	++	⊕	⊕	—

Kontrolle B ⊕ durch 1,1.

10. Juli. Abermalige Prüfung an einer Abzweigung.

11. Juli	0	0	+	+	+	+	++	++	++	++	++
12. "	0	+	+	+	++	++	++	++	++	++	++
13. "	0	+	++	++	++	++	++	++	++	++	++
14. "	0	+	++	++	++	++	++	++	++	⊕	⊕
20. "	0	++	++	++	++	++	++	++	⊕	⊕	—

Kontrolle B ⊕ durch 1,1.

10. September. Abermalige Prüfung an einer Abzweigung.

75

Proz.	1,0	2,0	3,0	4,0	4,5	4,6	4,7	4,8	5,0
11. September	0	0	+	+	+	++	++	++	+++
12. "	0	+	+	+	++	++	++	++	+++
13. "	0	+	+	+	++	++	++	++	⊕
14. "	0	+	++	++	++	++	++	++	+
15. "	0	+	++	++	++	++	++	⊕	-
20. "	0	++	++	++	+++	++	+++	-	-

Kontrolle B durch 1,1 Proz. abgetötet.

25. September. Abermalige Prüfung.

70

26. September	0	0	+	+	+	+	++	++	++
27. "	0	+	+	+	+	++	++	++	+++
28. "	0	+	+	+	++	++	++	++	⊕
29. "	0	+	++	++	++	++	++	++	⊕
5. Oktober	0	++	++	++	++	++	++	⊕	-

Kontrolle B durch 1,0 Proz. abgetötet.

20. Oktober. Abermalige Prüfung.

75

21. Oktober	0	0	+	+	+	+	++	++	+++
22. "	0	+	+	+	++	++	++	++	+++
23. "	0	+	+	+	++	++	++	++	⊕
24. "	0	+	++	++	++	++	++	⊕	-
31. "	0	+	++	++	++	++	+++	-	-

Kontrolle B durch 1,1 Proz. abgetötet.

20. November. Abermalige Prüfung.

76

21. November	0	0	+	+	++	++	++	+++	⊕
22. "	0	+	+	+	++	++	++	++	⊕
23. "	0	+	+	+	++	++	++	⊕	-
24. "	0	+	++	++	++	++	++	-	-
1. Dezember	0	+	++	++	+++	⊕	⊕	-	-

Kontrolle B durch 1,1 Proz. abgetötet.

5. Dezember. Abermalige Prüfung.

61

Proz.	1,0	2,0	3,0	4,0	4,2	4,4	4,5	4,7	4,8
6. Dezember	0	0	+	++	++	++	++	++	+++
7. "	0	+	++	++	++	+++	+++	⊕	⊕
8. "	0	+	++	++	++	⊕	⊕	⊕	-
9. "	0	++	++	++	+++	-	-	-	-
15. "	0	++	++	+++	+++	-	-	-	-

Kontrolle durch 1,1 Proz. abgetötet.

19. Dezember. Abermalige Prüfung.

175

Proz.	1,0	2,0	3,0	4,0	4,2	4,4	4,5	4,7	4,8
20. Dezember	0	+	+	+	+++	⊕	⊕	⊕	⊕
21. "	0	+	++	++	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕
22. "	0	+	++	++	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕
23. "	0	++	++	+++	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕
8. Januar 1912	0	++	++	⊕					

Kontrolle B abgetötet durch 1,1 Proz.

15. Januar. Abermalige Prüfung.

202

Proz.	1,0	2,0	2,5	3,0	3,5	3,75	4,0	4,2	4,5
16. Januar	0	+	+	+	++	⊕	⊕	⊕	⊕
17. "	0	++	++	+++	+++	⊕	⊕	⊕	⊕
18. "	0	++	++	+++	+++	⊕	⊕	⊕	⊕
19. "	0	++	++	⊕	⊕				
25. "	0	++	+++						

Kontrolle B abgetötet durch 1,0 Proz.

30. Januar. Abermalige Prüfung.

217

Proz.	1,0	1,25	1,5	1,75	2,0	2,25	2,5	2,75	3,0	3,5
31. Januar	0	0	+	+	++	++	+++	+++	+++	+++
1. Februar	0	+	++++	++++	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕
2. "	0	+	++++	⊕						
3. "	0	+++	⊕							
10. "	++	++								

Kontrolle B abgetötet durch 1,0 Proz.

10. Februar. Abermalige Prüfung.

228

Proz.	0,5	1,0	1,1	1,2	1,3	1,4	1,5	2,0	3,0
11. Februar	0	+	+	+	+	⊕	⊕	⊕	⊕
12. "	0	++	++	+++	+++	⊕	⊕	⊕	⊕
13. "	0	++	++	⊕	⊕				
14. "	+	++	++						
20. "	+	⊕	⊕						

Kontrolle B abgetötet durch 1,1 Proz.!!

22. Februar. Abermalige Prüfung.

270

Proz.	0,5	1,0	1,1	1,2	1,3	1,4	1,5	2,0	3,0
23. Februar	0	+	+	++	++	+	++	+++	-
24. "	0	++	++	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	-
25. "	0	++	⊕						
26. "	+	++							
5. März	+	+++							

Kontrolle abgetötet durch 1,1 Proz.

260

10. März. Letzte Prüfung.

11. März	0	+	+	++	++	++	-	-
12. "	0	++	++	⊕	⊕	⊕	-	-
13. "	0	++	⊕					
14. "	+	++						
20. "	+	+++						
1. April	+	+++						

Kontrolle B ⊕ durch 1,1 Proz.

Protokoll 2.

Dauermodifikationen.

Stamm α.

Maxima tolerata-Dosis 0,9 Proz.

10. Mai 1911 wird eine gut gewachsene Kultur in 0,4proz. Lösung von arseniger Säure gebracht und bei Zimmertemperatur gehalten.

12. Mai +.

17. Mai wieder üppig vermehrt.

17. Mai auf sechs Stunden in 1 Proz., dann in 0,4 Proz.

18. Mai ++.

25. Mai wieder üppig gewachsen.

25. Mai auf sechs Stunden in 1,25 Proz., dann zurück in 0,4 Proz.

26. Mai ++.

2. Juni wieder üppig gewachsen.

2. Juni auf sechs Stunden in 2,5 Proz., dann zurück in 0,4 Proz.

3. Juni nur noch einzelne Paramäcien am Leben.

10. Juni starke Vermehrung erfolgt.

12. Juni auf 15 Stunden in 2 Proz., dann zurück in 0,4 Proz.

15. Juni nur vereinzelte Paramäcien am Leben.

22. Juni wieder üppig gewachsen.

22. Juni auf 24 Stunden in 2 Proz., dann zurück in 0,4 Proz.

24. Juni noch sechs lebende Paramäcien gesehen.

5. Juli wieder gut gewachsen.

5. Juli auf sechs Stunden in 3 Proz., dann zurück in 0,4 Proz.

7. Juli vereinzelte Paramäcien am Leben.

18. Juli auf 24 Stunden in 2 Proz., dann zurück in 0,4 Proz.

20. Juli vereinzelte Paramäcien am Leben.

20. September auf zwölf Stunden in 2,5 Proz., dann zurück in 0,4 Proz.  
 21. September ++.  
 25. September auf zwölf Stunden in 3 Proz., dann in 0,9 Proz.  
 28. September ++.  
 5. Oktober üppig gewachsen.  
 6. Oktober auf 24 Stunden in 2 Proz., dann in 0,4 Proz.  
 6. Oktober +.  
 7. Oktober +.  
 10. Oktober sehr üppige Kulturen werden in arsenfreies Salatwasser gesetzt und hierin dauernd weitergeführt.  
 10. Oktober gleichzeitig Arsenresistenz direkt geprüft.

Proz.	0,5	0,75	0,9	1,0	1,25	1,5	2,0	2,5	3,0	3,5
12. Oktober	0	+	+	+	+	+	+	+	+	+++
15. "	0	+	+	+	+	+	++	++	++	⊕+++

Kontrolle  $\alpha$  abgetötet durch 1 Proz.

17. Oktober Prüfung von Proben der in Salatwasser weitergeführten Kulturen auf ihre Arsenresistenz.

Proz.	0,5	0,9	1,0	1,5	2,0	2,5	2,75	3,0	3,25	3,5	4,0
18. Oktober	0	0	0	0	0	0	+	+	+	+	+
19. "	0	0	0	0	0	+	+	+	++++	++++	⊕+++
20. "	0	0	0	+	+	++	++	++	⊕	⊕	⊕
21. "	0	0	0	+	+	++	++	++	⊕	⊕	⊕
30. "	+	+	+	+	++	++	++	++	++	++	++

Kontrolle  $\alpha$  abgetötet durch 1 Proz.

2. November neue Prüfung.

3. November	0	0	0	0	0	0	+	+	+	+	+
4. "	0	0	0	0	0	+	++	++	⊕+++	⊕	⊕
5. "	0	0	0	+	+	++	++	++	⊕	⊕	⊕
6. "	0	+	+	+	++	++	++	++	⊕	⊕	⊕
15. "	+	+	+	+	++	++	++	++	++	++	++

Kontrolle  $\alpha$  abgetötet durch 1 Proz.

20. November neue Prüfung.

21. November	0	0	0	0	+	+	+	+	⊕++	⊕++	⊕++
22. "	0	0	0	+	+	++	++	++	⊕	⊕	⊕
23. "	0	0	0	+	+	++	++	++	⊕	⊕	⊕
24. "	0	0	0	+	++	++	++	++	⊕	⊕	⊕
30. "	+	+	+	+	++	++	++	++	++	++	++

Kontrolle  $\alpha$  abgetötet durch 0,9 Proz.

10. Dezember neue Prüfung.

Proz.	0,5	0,9	1,0	1,5	2,0	2,5	2,75	3,0	3,25	3,5	4,0
11. Dezember	0	0	0	0	+	+	+	+	+	++	++
12. "	0	0	+	+	+	++	++	++	⊕	⊕	⊕
13. "	0	0	+	+	+	++	++	++			
14. "	0	+	+	+	+	++	++	++			
23. "	0	+	+	+	++	++	++	++			

Kontrolle  $\alpha$  abgetötet durch 1 Proz.

15. Januar 1912 neue Prüfung.

Proz.	0,5	1,0	1,5	2,0	2,25	2,5	2,75	3,0	3,25	3,5
16. Januar	0	0	0	0	+	+	+	+	++	++
17. "	0	0	0	+	++	++	++	++	⊕	⊕
18. "	0	0	0	+	++	++	++	++		
19. "	0	0	0	+	++	++	++	++		
25. "	0	+	+	++	++	++	++	++	-	-

Kontrolle  $\alpha$  abgetötet durch 1,0 Proz.

15. Februar neue Prüfung.

16. Februar	0	0	0	+	+	+	+	++	++	++
17. "	0	+	+	++	++	++	++	++	⊕	⊕
18. "	0	+	+	++	++	++	++	++		
19. "	0	+	+	++	++	++	++	++		
25. "	+	+	+	++	⊕	⊕	-	-	-	-

Kontrolle  $\alpha$  abgetötet durch 1 Proz.

15. März neue Prüfung.

16. März	0	0	+	+	++	++	++	++	++	⊕
17. "	0	+	++	⊕	++	⊕	⊕	⊕	⊕	-
18. "	0	+	++	⊕	++	-	-	-	-	-
19. "	0	+	++	-	-	-	-	-	-	-
25. "	0	+	++	-	-	-	-	-	-	-

Kontrolle  $\alpha$  abgetötet durch 1 Proz.

30. März neue Prüfung.

31. März	0	+	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	-	-
1. April	0	++	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	-	-
2. "	0	++	-	-	-	-	-	-	-	-
3. "	+	⊕	-	-	-	-	-	-	-	-
10. "	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-



## 5. April neue Prüfung.

Proz.	0,5	0,75	0,9	1,0	1,25	1,5	2,0	2,5	3,0
6. April	0	0	0	+	+	+	++	++	⊕
7. "	0	+	+	++	+++	⊕	⊕	⊕	—
8. "	0	+	+	+++	+++	—	—	—	—
9. "	+	+	+	⊕	⊕	—	—	—	—
15. "	+	+	++	—	—	—	—	—	—

Kontrolle  $\alpha$  abgetötet durch 1 Proz.

## 15. April neue Prüfung.

16. April	0	0	+	+	+	++	++	⊕	⊕
17. "	0	+	+	+++	+++	⊕	⊕		
18. "	0	+	++	⊕	⊕				
19. "	0	++	++						
25. "	+	++	⊕						

Kontrolle  $\alpha$  abgetötet durch 1 Proz.

## 2. Mai letzte Prüfung.

3. Mai	0	0	0	+	+	++	++	+++	⊕
4. "	0	0	+	+++	++	⊕	⊕		
5. "	0	+	++	⊕	⊕				
6. "	+	+	++						
15. "	+	++	++						

Kontrolle  $\alpha$  abgetötet durch 1,0 Proz.

## Protokoll 3.

## Dauermodifikationen.

## Stamm Z.

Maxima tolerata-Dosis = 0,8 Proz.

1. Juni 1911. Üppige Kultur wird in 0,3proz. arsenige Säure bei Zimmertemperatur gebracht.

12. Juni unverändert üppig, auf 24 Stunden in 0,9 Proz., dann zurück in 0,3 Proz.

15. Juni +++.

20. Juni wieder reiche Kultur; wird auf 12 Stunden in 1,5 Proz. gebracht, dann zurück in 0,3 Proz.

22. Juni ++.

30. Juni wieder reiche Kultur; auf 24 Stunden in 2,5 Proz., dann zurück in 0,3 Proz.

3. Juli nur noch ein lebendes Individuum gefunden.

20. Juli wieder reiche Kultur; wird in 0,75 Proz. gebracht.

25. Oktober mäßige Kultur; wird in 0,3 Proz. zurückgebracht.

1. November reiche Kultur; auf 30 Stunden in 3,5 Proz., dann zurück in 0,3 Proz.

4. November ++.

8. November reiche Kultur; auf 48 Stunden in 3,5 Proz., dann zurück in 0,3 Proz.

12. November nur vereinzelte Paramäcien noch am Leben.

22. November wieder reiche Kultur; wird auf 48 Std. in 2 Proz. gebracht, dann zurück in 0,3 Proz.

26. November kaum veränderte reiche Kultur (+); wird in arsenfreies Salatwasser überführt, hierin dauernd bei Zimmertemperatur weiter gezogen. Proben daraus auf ihre Arsenresistenz geprüft.

Proz.	0,5	0,75	1,0	1,25	1,5	1,75	2,0	2,5	3,0	3,5	4,0	5,0
27. November	0	0	0	0	0	0	+	+	+	++	+++	⊕
28. "	0	0	0	0	0	+	+	+	⊕	⊕	⊕	-
29. "	0	0	0	0	+	+	+	+	⊕			
30. "	0	0	0	0	+	+	++	++				
5. Dezember	0	0	+	+	+	+	+++	+++				

Kontrolle Z abgetötet durch 1 Proz.

10. Dezember abermalige Prüfung.

11. Dezember	0	0	0	0	0	+	+	+	+++	+++	+++	⊕
12. "	0	0	0	0	+	+	+	+	⊕	⊕	⊕	
18. "	0	0	0	0	+	+	+	+	⊕			
14. "	0	0	0	+	+	+	++	++				
20. "	0	0	+	+	+	+	++	++				

Kontrolle Z abgetötet durch 0,9 Proz.

15. Januar abermalige Prüfung.

Proz.	0,75	1,0	1,25	1,5	2,0	2,25	2,5	2,75	3,0	4,0
16. Januar	0	0	0	0	+	+	+	+	++	+++
17. "	0	0	0	+	+	+	++	++	⊕	⊕
18. "	0	0	0	+	++	++	++	++		
19. "	0	0	+	+	++	++	++	⊕		
25. "	0	0	+	+	++	++	++			

Kontrolle Z abgetötet durch 1 Proz.

30. Januar abermalige Prüfung.

Proz.	0,75	1,0	1,25	1,5	2,0	2,25	2,5	2,75	3,0	4,0
31. Januar	0	0	0	+	+	+	+	+	++	+++
1. Februar	0	0	0	+	+	+	+	+	⊕	⊕
2. "	0	0	+	+	++	++	++	⊕		
3. "	0	0	+	+	++	++	++			
10. "	0	+	+	+	++	++	++			

Kontrolle Z abgetötet durch 0,9 Proz.

15. Februar abermalige Prüfung.

Proz.	0,75	1,0	1,25	1,5	2,0	2,25	2,5	2,75	3,0	4,0
16. Februar	0	0	0	+	+	+	+	+++	++	+++
17. "	0	0	0	+	+	+	+	++	+	+
18. "	0	0	0	+	+	+	+	+	+	+
19. "	0	0	+	+	+	+	+	+	+	+
25. "	0	0	+	+	+	+	+	+	+	+

Kontrolle Z abgetötet durch 0,9 Proz.

1. März abermalige Prüfung.

2. März	0	0	0	+	+	+	+	+	+	+
3. "	0	0	+	+	+	+	+	+	+	+
4. "	0	0	+	+	+	+	+	+	+	+
5. "	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
10. "	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Kontrolle Z abgetötet durch 0,9 Proz.

15. März abermalige Prüfung.

16. März	0	0	0	+	+	+	+	+	+	+
17. "	0	0	+	+	+	+	+	+	+	+
18. "	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
19. "	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
25. "	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Kontrolle Z abgetötet durch 0,9 Proz.

3. April abermalige Prüfung.

Proz.	0,75	0,9	1,0	1,25	1,5	1,75	2,0	2,25	2,5	3,0
4. April	0	0	+	+	+	+	+	+	+	+
5. "	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
6. "	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
7. "	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
15. "	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Kontrolle Z abgetötet durch 0,9 Proz.

20. April abermalige Prüfung.

21. April	0	+	+	+	+	+	+	+	+	+
22. "	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
23. "	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
24. "	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
30. "	++	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Kontrolle Z abgetötet durch 1 Proz.

1. Mai abermalige Prüfung.

2. Mai	0	+	+	+	+	+	+	+	+	+
3. "	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
4. "	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
5. "	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
10. "	++	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Kontrolle Z abgetötet durch 0,9 Proz.

10. Mai abermalige Prüfung.

Proz.	0,75	0,9	1,0	1,25	1,5	1,75	2,0	2,25	2,5	3,0
12. Mai	+	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕
15. "	++									
20. "	+++									

Kontrolle Z abgetötet durch 0,9 Proz.

20. Mai letzte Prüfung.

22. Mai	+	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕
25. "	++									
30. "	+++									

Kontrolle Z abgetötet durch 0,9 Proz.

Protokoll 4.  
Dauermodifikationen.

Stamm B.

Eine üppige Kultur wird am 22. September 1911 in eine 1,5proz. Lösung von arseniger Säure in Salatwasser gebracht.

24. September noch 4 lebende Paramäcien gesehen.

26. September keine lebenden Paramäcien mehr gesehen.

29. September vereinzelte Paramäcien.

2. Oktober intensive Vermehrung.

5. Oktober Überführung in arsenfreies Salatwasser, in dem die Kultur von nun an dauernd (bei 31°) gehalten wird.

12. Oktober Prüfung der Arsenresistenz der Zucht, die von jetzt ab als B1 bezeichnet wird.

Proz.	0,5	1,0	1,1	1,2	1,3	1,5	1,75	2,0	2,5
13. Oktober	0	0	0	0	0	0	0	0	0
14. "	0	0	0	0	0	0	0	0	0
15. "	0	0	0	0	0	0	0	+	+
16. "	0	0	0	0	0	0	0	+	+
25. "	0	0	0	0	0	0	+	+	+

Kontrolle B sämtliche Paramäcien abgetötet durch 1,1 Proz.

16. Oktober abermalige Prüfung.

Proz.	1,0	1,2	1,5	2,0	2,5	3,0	3,5	4,0	4,5	5,0	6,0
17. Oktober	0	0	0	0	0	0	0	+	+	+	⊕
18. "	0	0	0	0	0	0	0	+	+++	+++	⊕
19. "	0	0	0	0	+	+	+	+	+++	+++	⊕
20. "	0	0	0	0	+	+	+	+	+++	+++	—
30. "	0	0	0	+	+	+++	+++	+++	+++	+++	—

Kontrolle B abgetötet durch 1,1 Proz.

## 23. Oktober abermalige Prüfung.

Proz.	1,0	1,5	2,0	2,5	3,0	3,5	4,0	4,5	5,0	5,5	6,0
24. Oktober	0	0	0	0	0	0	+	+	+	++	+++
25. "	0	0	0	0	0	0	+	++	++	⊕	⊕
26. "	0	0	0	+	0	+	+	++	++	—	—
27. "	0	0	0	+	+	+	+	++	++	—	—
5. November	0	0	0	+	+	+	+	++	++	—	—

Kontrolle B abgetötet durch 1,1 Proz.

## 30. Oktober abermalige Prüfung.

Proz.	1,0	2,0	3,0	4,0	4,5	5,0	5,1	5,2	5,5
31. Oktober	0	0	0	0	+	+	+	+	++
1. November	0	0	0	+	+	+	++	+++	⊕
2. "	0	0	0	+	+	++	++	+++	—
3. "	0	0	0	+	+	++	+++	⊕	—
10. "	0	0	+	++	++	++	⊕	—	—

Kontrolle B abgetötet durch 1,0 Proz.

## 10. November abermalige Prüfung.

11. November	0	0	0	0	+	+	+	+	+
12. "	0	0	0	+	+	++	++	+++	⊕
13. "	0	0	0	+	+	++	+++	+++	—
14. "	0	0	+	+	+	++	⊕	⊕	—
20. "	0	0	+	+	++	++	—	—	—

Kontrolle B abgetötet durch 1,1 Proz.

20. November  
 1. Dezember  
 15. Januar 1912  
 30. "  
 15. Februar  
 1. März  
 15. "  
 30. "  
 15. April  
 30. "

weitere Prüfungen mit dem gleichen Ergebnis. Die „maxima tolerata“-Dosis bleibt für B1 = 5 Proz.

Eine weitere Prüfung am

15. Mai 1912 ergab:

Proz.	1,0	1,5	2,0	2,5	3,0	3,5	4,0	4,5	5,0	6,0
16. Mai	0	0	0	0	0	0	+	+	+	+++
17. "	0	0	0	0	+	+	++	++	++	⊕
18. "	0	0	0	+	+	+	++	++	++	—
19. "	0	0	0	+	+	+	++	++	++	—
25. "	0	0	0	+	+	++	++	+++	⊕	—

Kontrolle B abgetötet durch 1,1 Proz.

29. Mai weitere Prüfung.

Proz.	1,0	1,5	2,0	2,5	3,0	3,5	4,0	4,5	5,0	6,0
30. Mai	0	0	0	0	+	+	+	+	+	⊕
31. "	0	0	0	0	+	+	++	+++	+++	—
1. Juni	0	0	+	+	+	+	++	+++	+++	—
2. "	0	0	+	+	+	++	+++	⊕	⊕	—
10. "	0	0	+	+	+	++	+++	—	—	—

Kontrolle B abgetötet durch 1,0 Proz.

10. Juni weitere Prüfung.

11. Juni	0	0	0	0	+	+	+	+	++	+++
12. "	0	0	0	+	+	+	++	⊕	⊕	⊕
13. "	0	0	0	+	+	+	++	⊕	—	—
14. "	0	0	+	+	++	++	+++	—	—	—
20. "	0	0	+	+	++	+++	+++	—	—	—

Kontrolle B abgetötet durch 1,1 Proz.

20. Juni weitere Prüfung.

Proz.	1,0	2,0	3,0	3,5	3,6	3,8	4,0	4,1	4,2	4,3	4,5	5,0
21. Juni	0	0	+	+	++	+	+	++	++	+	++	+++
22. "	0	0	+	++	++	++	+++	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕
23. "	0	0	++	++	++	+++	⊕	—	—	—	—	—
24. "	0	+	++	+++	+++	⊕	—	—	—	—	—	—
30. "	0	+	+++	+++	+++	—	—	—	—	—	—	—

8. Juli weitere Prüfung.

Proz.	1,0	1,5	2,0	2,5	2,75	3,0	3,25	3,5	3,75	4,0	4,5
2. Juli	0	0	0	+	+	+	++	++	+	++	++
10. "	0	0	+	++	+++	+++	+++	⊕	⊕	⊕	⊕
11. "	0	0	++	++	+++	+++	⊕	—	—	—	—
12. "	0	0	++	++	+++	⊕	—	—	—	—	—
20. "	+	+	++	+++	⊕	—	—	—	—	—	—

Kontrolle B abgetötet durch 1,1 Proz.

25. August weitere Prüfung.

1. September |+++| ⊕ | ⊕ | ⊕ | ⊕ | ⊕ | ⊕ | ⊕ | ⊕ | ⊕ | ⊕

Kontrolle B abgetötet durch 1,1 Proz.

5. September weitere Prüfung.

Proz.	0,75	1,0	1,1	1,2	1,3	1,5	1,75	2,0	2,5	3,0	4,0
6. September	0	+	+	+	+	+	++	⊕	+++	+++	⊕
7. "	+	+	++	+++	+++	⊕	⊕	—	⊕	—	—
8. "	+	++	+++	⊕	⊕	—	—	—	—	—	—
9. "	+	++	⊕	—	—	—	—	—	—	—	—
15. "	+	++	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Kontrolle B abgetötet durch 1,0 Proz.

4\*

## 2. Oktober weitere Prüfung.

Proz.	0,75	1,0	1,1	1,2	1,3	1,5	1,75	2,0	2,5	3,0	4,0
3. Oktober	0	+	+	+	+	+	+	++	++	+++	+++
4. "	0	+	++	+++	+++	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕
5. "	+	++	⊕	⊕	⊕	—	—	—	—	—	—
6. "	+	++	—	—	—	—	—	—	—	—	—
15. "	++	++	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Kontrolle B abgetötet durch 1,1 Proz.

## 15. Oktober weitere Prüfung.

16. Oktober	0	+	+	+	+	++	++	++	++	—	—
17. "	+	++	+++	+++	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	—	—
18. "	+	++	⊕	⊕	—	—	—	—	—	—	—
19. "	+	++	—	—	—	—	—	—	—	—	—
25. "	++	+++	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Kontrolle B abgetötet durch 1,1 Proz.

## 15. November weitere Prüfung.

Proz.	0,75	1,0	1,1	1,2	1,3	1,5	1,75	2,0	3,0
16. November	0	+	+	+	+	++	++	+++	⊕
17. "	+	+++	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	—
18. "	+	+++	—	—	—	—	—	—	—
19. "	++	⊕	—	—	—	—	—	—	—
25. "	++	—	—	—	—	—	—	—	—

Kontrolle B abgetötet durch 1,0 Proz.

## 30. November letzte Prüfung.

1. Dezember	0	+	+	+	+	+	++	+++	+++
2. "	+	++	+++	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕
3. "	++	++	⊕	—	—	—	—	—	—
4. "	++	+++	—	—	—	—	—	—	—
10. "	++	+++	—	—	—	—	—	—	—

Kontrolle B abgetötet durch 1,1 Proz.

Die wiedergegebenen Protokolle 1 bis 4 zeigen uns weiterhin, daß die sowohl unter der einmaligen wie auch unter wiederholter Einwirkung übertödlicher Konzentrationen von arseniger Säure entstandenen Steigerungen der Arsenresistenz lange Zeit auch bei der Weiterzucht in arsenfreiem Medium unverändert erhalten bleiben, lange Zeit (im Falle von Z von Ende November 1911 bis Ende Februar 1912, bei  $\alpha$  von Mitte Oktober 1911 bis Mitte Februar 1912, bei B endlich einmal von Ende Mai 1911 bis November 1911, das andere Mal, bei den durch einmalige Einwirkung der übertödlichen Konzentration besonders hoch gefestigten Zweigkulturen sogar von

Mitte Oktober 1911 bis Mitte Mai 1912, also fast sieben Monate), — aber nicht dauernd. Denn in allen Fällen sehen wir nach zahlreichen, unter Umständen nach Hunderten von Teilungsschritten ein Abklingen der erworbenen Resistenzsteigerung, ein Abklingen, das, wie uns die Protokolle lehren, schließlich alle Unterschiede gegenüber dem Ausgangsstamme vollständig beseitigt. Wir hatten zuvor nur den Moment festgelegt, in dem der Beginn einer solchen Rückbildung zum Verhalten der Stammform nachgewiesen werden konnte. Beendet war dieser Prozeß, der Rückschlag also vollständig vollzogen (vgl. die Protokolle), bei Z nach fünfmonatiger Weiterzucht in arsenfreiem Medium, entsprechend bei  $\alpha$  nach  $5\frac{1}{2}$  Monaten und bei B nach etwa neun Monaten.

So das Verhalten bei ständiger Weiterzucht in normalem arsenfreiem Kulturmedium. Wesentlich schneller erfolgte dagegen die Rückbildung bei häufigem und schroffem Wechsel der Außenbedingungen. Protokoll 5 gibt uns hierfür ein recht klares Beispiel:

Wieder handelt es sich hierbei um eine Veränderung des Stammes A, der nach viermonatiger Behandlung noch gegen eine 3,5proz. Lösung der arsenigen Säure gefestigt worden war. Am 25. März 1912 wurde die Kultur der gefestigten Paramäcien geteilt, ein Zweig in normalem arsenfreiem Salatwasser bei konstanter Temperatur belassen, der andere zwecks Auslösung von Conjugation wiederholt einem schroffen Wechsel der Temperatur- und Ernährungsbedingungen unterworfen. Conjugationen wurden in diesem Falle nicht erzwungen, wohl aber hatten die so behandelten Infusorien bereits am 5. Mai die erworbene Giftfestigkeit vollständig verloren, während in dem unter normalen Bedingungen weitergeführten Teile die gesteigerte Widerstandsfähigkeit erst Ende Juni zu schwinden anfing und erst Anfang September (vielleicht schon August 1912) vollständig zurückgebildet worden war.

### Protokoll 5.

#### Dauermodifikationen.

##### Stamm A.

Maxima tolerata Dosis 0,9 Proz.

20. Oktober 1911 wird eine gut angereicherte Kultur in 0,5 Proz. arsenige Säure gebracht.

22. Oktober +.

27. Oktober gut vermehrt.

27. Oktober wird auf 24 Stunden in 1 Proz. gebracht, dann zurück in 0,5 Proz.



29. Oktober ++.
7. November wieder reiche Kulturen.
7. November wird auf 6 Stunden in 3 Proz. gebracht, dann zurück in 0,5 Proz.
8. November nur ein lebendes *Paramaccium* beobachtet.
20. November mäßig besiedelte Kultur.
26. November wieder üppig vermehrt, wird auf 12 Stunden in 2 Proz. gebracht, dann zurück in 0,5 Proz.
28. November ++.
5. Dezember üppige Kultur, wird auf 15 Stunden in 3 Proz. gebracht, dann zurück in 0,5 Proz.
7. Dezember vereinzelt Paramäcien noch am Leben.
18. Dezember üppige Kultur, wird auf 24 Stunden in 1,5 Proz. gebracht, dann zurück in 0,5 Proz.
20. Dezember ++.
15. Januar 1912 üppige Kulturen, wird auf 24 Stunden in 2,5 Proz. gebracht, dann zurück in 0,5 Proz.
18. Januar nur drei lebende Paramäcien festgestellt.
31. Januar üppige Kultur, wird auf 12 Stunden in 3 Proz. gebracht, dann zurück in 0,5 Proz.
2. Februar ++.
6. Februar gute Kultur, wird auf 24 Stunden in 3 Proz. gebracht, dann zurück in 0,5 Proz.
8. Februar ++.
13. Februar gute Kultur, wird auf 48 Stunden in 1,5 Proz. gebracht, dann zurück in 0,5 Proz.
16. Februar +.
17. Februar +.
21. Februar üppige Kultur, wird auf 24 Stunden in 3 Proz. gebracht, dann zurück in 0,5 Proz.
23. Februar Kultur üppig geblieben.
24. Februar +.
25. Februar +.
25. Februar wird die Kultur in arsenfreies Salatwasser überführt und hierin von jetzt an dauernd weitergezüchtet (bei Zimmertemperatur). An entnommenen Proben werden Prüfungen der Arsenfestigkeit angestellt (als A 1 bezeichnet).

## 5. März Erste Prüfung.

Proz.	0,5	0,9	1,0	1,1	1,25	1,5	2,0	2,5	3,0	3,5	4,0	5,0
6. März	0	0	0	0	0	0	0	0	0	+	+	+
7. "	0	0	0	0	0	0	0	+	++	++	+++	⊕
8. "	0	0	0	0	0	+	+	+	++	++	⊕	
9. "	0	0	0	0	0	+	+	+	++	++		
15. "	0	0	+	+	+	+	+	++	++	++		

Kontrolle A wird durch 1,0 Proz. abgetötet.

20. März weitere Prüfung.

Proz.	0,5	0,9	1,0	1,1	1,25	1,5	2,0	2,5	3,0	3,5	4,0	5,0
21. März	0	0	0	0	0	0	0	0	+	+	+	+
22. "	0	0	0	0	0	0	+	+	++	++	⊕	⊕
23. "	0	0	0	0	0	+	+	+	++	++	—	—
24. "	0	0	0	0	+	+	+	+	++	++	—	—
30. "	0	+	+	+	+	+	++	++	++	++	—	—

Kontrolle A wird durch 1,0 Proz. abgetötet.

25. März die Kultur wird geteilt, ein Teil als A $\alpha$  bezeichnet, wird in Salatwasser bei ca. 20° belassen; der andere — als A $\beta$  geführte — soll durch Wechsel der äußeren Bedingungen zur Conjugation veranlaßt werden.

	A $\beta$
25. März	in Salatwasser + ausgekochte Salatblätter bei 20°.
29. "	in abgekochtes Leitungswasser (ohne Nährlösung) bei 27°.
30. "	keine Conjugation.
31. "	
1. April	in Salatwasser + ausgekochte Salatblätter in Säckchen bei 16 bis 18°.
6. "	in abgekochtes Leitungswasser (ohne Nährlösung) bei 27°.
7. "	keine Conjugationen.
8. "	
9. "	
10. "	in Salatwasser bei 8 bis 10°.
17. "	in abgekochtes Leitungswasser bei 27°.
18. "	keine Conjugationen.
19. "	
20. "	
21. "	in Salatwasser bei 8 bis 10°.
26. "	in Leitungswasser bei 20°.
27. "	keine Conjugationen.
28. "	
29. "	
29. "	in Salatwasser bei 20° wie A $\alpha$ .

	A $\alpha$							
	- 5. April weitere Prüfung.							
Proz.	0,9	1,0	1,5	2	2,5	3	3,5	4
6. April	0	0	0	0	0	+	+	++
7. "	0	0	0	0	+	++	++	⊕
8. "	0	0	0	+	+	++	++	
9. "	0	0	+	+	+	++	++	
15. "	0	0	+	+	++	++	++	
Kontrolle A abgetötet durch 1,0 Proz.								
	20. April weitere Prüfung.							
21. April	0	0	0	0	0	+	+	++
22. "	0	0	0	+	+	++	++	⊕
23. "	0	0	+	+	+	++	++	
24. "	0	0	+	+	+	++	++	
30. "	0	0	+	+	++	++	++	
Kontrolle A abgetötet durch 1,0 Proz.								
	5. Mai weitere Prüfung.							
6. Mai	0	0	0	+	+	+	+	++
7. "	0	0	0	+	+	++	++	⊕
8. "	0	0	0	+	+	++	++	
9. "	0	0	+	+	+	++	++	
15. "	0	+	+	++	++	++	++	
Kontrolle A abgetötet durch 1,0 Proz.								
	20. Mai weitere Prüfung.							
21. Mai	0	0	0	+	+	+	+	+
22. "	0	0	0	+	+	++	++	⊕
23. "	0	0	0	+	++	++	++	
24. "	0	0	+	+	++	++	++	
30. "	0	0	+	+	++	++	++	
Kontrolle A abgetötet durch 1,0 Proz.								

A $\beta$   
5. Mai Prüfung der Arsenresistenz.

Proz.	0,9	1,0	1,5	2,0	2,5	3,0	3,5	4,0
6. Mai	+	+	++	++	+++	+++	+++	+++
7. "	+	++	+	+	+	+	+	+
8. "	++	+	+	+	+	+	+	+
9. "	++	+	+	+	+	+	+	+
15. "	+	+	+	+	+	+	+	+

Kontrolle A abgetötet durch 1,1 Proz.

9. Mai abermalige Prüfung.

10. Mai	+	+	+	+	+	+	+	+
11. "	++	++	+	+	+	+	+	+
12. "	++	+	+	+	+	+	+	+
13. "	++	+	+	+	+	+	+	+
20. "	++	+	+	+	+	+	+	+

Kontrolle A abgetötet durch 1 Proz.

16. Mai abermalige Prüfung.

Proz.	0,75	0,9	1,0	1,1	1,3	1,5	2,0	2,5
17. Mai	+	+	+	+	+	+	+	+
18. "	++	++	++	++	++	+	+	+
19. "	++	++	++	++	++	+	+	+
20. "	++	++	+	+	+	+	+	+
25. "	++	++	+	+	+	+	+	+

Kontrolle A abgetötet durch 1 Proz.

20. Juni letzte Prüfung.

21. Juni	+	+	+	+	+	+	+	+
22. "	++	++	++	++	++	++	++	++
23. "	++	++	++	++	++	++	++	++
30. "	++	++	+	+	+	+	+	+

Kontrolle A abgetötet durch 1 Proz.

A $\alpha$   
5. Juni abermalige Prüfung.

Proz.	0,9	1,0	1,5	2,0	2,5	3,0	3,5	4,0
6. Juni	0	0	0	0	+	+	+	+
7. "	0	0	0	0	+	+	+	+
8. "	0	0	0	0	+	+	+	+
9. "	0	0	0	0	+	+	+	+
15. "	+	+	+	+	+	+	+	+

Kontrolle A abgetötet durch 1 Proz.

20. Juni abermalige Prüfung.

21. Juni	0	0	0	+	+	+	+	+
22. "	0	0	0	+	+	+	+	+
23. "	0	0	0	+	+	+	+	+
24. "	0	0	0	+	+	+	+	+
30. "	+	+	+	+	+	+	+	+

Kontrolle A abgetötet durch 1 Proz.

30. Juni abermalige Prüfung.

1. Juli	0	0	0	+	+	+	+	+
2. "	0	0	0	+	+	+	+	+
3. "	0	0	0	+	+	+	+	+
4. "	0	0	0	+	+	+	+	+
10. "	+	+	+	+	+	+	+	+

8. Juli abermalige Prüfung.

9. Juli	0	0	+	+	+	+	+	+
10. "	0	0	+	+	+	+	+	+
11. "	0	0	+	+	+	+	+	+
12. "	0	0	+	+	+	+	+	+
20. "	+	+	+	+	+	+	+	+

Kontrolle A abgetötet durch 1 Proz.

5. September abermalige Prüfung von A  $\alpha$ .

Proz.	0,75	0,9	1,0	1,25	1,5	2,0	2,5	3,0
6. September	+	+	+	++	++	++	+++	+++
7. "	+	+	+++	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕
8. "	+	++	⊕	—	—	—	—	—
9. "	+	++	—	—	—	—	—	—
15. "	++	++	—	—	—	—	—	—

Kontrolle A abgetötet durch 1 Proz.

## 8. September letzte Prüfung.

9. September	+	+	+	+	++	++	++	+++
10. "	+	++	+++	⊕	+++	⊕	⊕	⊕
11. "	+	++	⊕	—	⊕	—	—	—
12. "	+	++	—	—	—	—	—	—
15. "	++	++	—	—	—	—	—	—

Kontrolle A abgetötet durch 1 Proz.

Wichtiger noch und das Wesen der erzielten Abänderungen besonders klarlegend war aber das Verhalten der erzielten Umstimmungen nach einer Conjugation, Beobachtungen, über die uns Protokoll 6 alle Einzelheiten wiedergibt: Wir sehen hier, daß in einer noch gegen eine 3proz. arsenige Säurelösung gefestigten Zucht des normalerweise bereits durch 1 Proz. restlos abgetöteten Stammes  $\alpha$  Conjugationen auftraten, und daß die dann aus isolierten Conjugationspärchen gezogenen Subkulturen sogleich die erworbene Festigung vollständig verloren hatten. Am 8. März 1912 waren die Conjugationspärchen aufgetreten; am 22. März, bei der ersten vergleichenden Prüfung wiesen sämtliche, aus den Exconjuganten hervorgegangene Zuchten keinerlei Unterschiede gegenüber der Kontrollkultur des unvorbehandelten Stammes  $\alpha$  auf; ganz wie die Kontrolle wurden sie durch eine 1proz. Lösung arseniger Säure restlos abgetötet, während zu gleicher Zeit die aus nicht conjugierenden gefestigten Individuen weitergeführten Zuchten des abgeänderten Stammes noch unverändert eine 3proz. Lösung vertragen konnten und erst Anfang Juli die gesteigerte Widerstandsfähigkeit verloren!

## Protokoll 6.

## Dauermodifikation.

Stamm  $\alpha$ .

Maxima tolerata-Dosis = 0,9 Proz.

20. Oktober 1911 wird eine gut gewachsene Kultur in 0,3proz. arsenige Säure bei Zimmertemperatur gebracht.

22. Oktober unverändert üppige Kultur wird auf 6 Stunden in 2proz. arsenige Säure gebracht, dann zurück in 0,3 Proz.

24. Oktober ++.

29. Oktober gute Kultur, wird auf 24 Stunden in 1,25 Proz. gebracht, dann zurück in 0,3 Proz.

31. Oktober +++.

10. November wieder üppige Kultur, auf 12 Stunden in 2,5 Proz., dann zurück in 0,3 Proz.

11. November nur noch vereinzelt Paramäcien am Leben.

20. November wieder gute Kultur, auf 24 Stunden in 2 Proz., dann zurück in 0,3 Proz.

22. November nur noch vereinzelt Infusorien am Leben.

29. November gute Kultur, auf 30 Stunden in 2 Proz., dann zurück in 0,3 Proz.

2. Dezember noch 2 lebende Paramäcien gefunden.

9. Dezember Vermehrung lebhaft.

15. Dezember gute Kultur auf 15 Stunden in 3 Proz., dann zurück in 0,3 Proz.

18. Dezember noch drei lebende Paramäcien gefunden.

15. Januar 1912 üppige Kultur auf 24 Stunden in 2 Proz. bei 26°, dann zurück in 0,3 Proz. bei 26° und nach weiteren 24 Stunden in Zimmertemperatur (18°).

18. Januar nur vereinzelt Infusorien am Leben.

25. Januar auf 12 Stunden in 3 Proz., dann auf 72 Stunden in 0,75, dann zurück in 0,3 Proz.

31. Januar ++.

7. Februar auf 24 Stunden in 3 Proz., dann zurück in 0,3 Proz.

9. Februar unverändert üppige Kultur.

10. Februar " " "

11. Februar " " "

11. Februar. Die Kultur wird nunmehr in arsenfreies Salatwasser versetzt, hierin dauernd bei Zimmertemperatur weiter geführt. Proben daraus auf ihre Arsenresistenz geprüft, als  $\alpha\alpha$  bezeichnet.

18. Februar erste Prüfung.

Proz.	0,75	0,9	1,0	1,1	1,25	1,5	1,75	2,0	2,5	3,0	3,5	4,0
19. Februar	0	0	0	0	0	0	0	0	0	+	+	++
20. "	0	0	0	0	0	0	0	0	++	++	+++	⊕
21. "	0	0	0	0	0	0	+	+	++	++	⊕	⊕
22. "	0	0	0	0	0	+	+	+	++	++	++	++
1. März	+	+	+	+	+	+	+	++	++	++	++	++

Kontrolle  $\alpha$  abgetötet durch 1 Proz.

1. März weitere Prüfung.

Proz.	0,75	1,0	1,25	1,5	2,0	2,5	3,0	3,5	4,0	5,0
2. März	0	0	0	0	0	+	+	+	++	+++
3. "	0	0	0	0	+	+	+	++	⊕	⊕
4. "	0	+	0	+	+	+	+	⊕	⊕	⊕
5. "	0	+	+	+	+	+	+	+	+	+
10. "	0	+	+	+	++	++	++	+	+	+

8. März. In der (im arsenfreien Salatwasser weitergeführten) typigen Kultur treten vereinzelte Conjugationspärchen auf. Diese werden möglichst vollständig herausgefischt und in drei Subkulturen getrennt weitergeführt. Es erhielt dabei S1 20 Conjugationspärchen, S2 18 Conjugationspärchen, S3 12 Conjugationspärchen. Alle Subkulturen werden gleichfalls in arsenfreiem Wasser bei Zimmertemperatur geführt.

22. März. S1, S2, S3 gut vermehrt, von jeder wird die Hälfte zur Prüfung auf Arsenresistenz verwandt, die andere Hälfte weiter in arsenfreiem Salatwasser gezüchtet.

22. März. Erste vergleichende Prüfung von  $\alpha\alpha$  S1, S2, S3 (und Kontrolle  $\alpha$ ).

Proz.	0,75	1,0	1,25	1,5	2,0	2,5	3,0	3,5	4,0	5,0
$\alpha\alpha$	0	0	0	0	+	+	+	+	+	⊕
23. März S1	0	+	++	++	++	++	++	+++	+++	⊕⊕
S2	0	+	++	++	++	++	++	⊕⊕	⊕⊕	⊕⊕
S3	0	+	++	++	++	++	++	⊕	⊕	⊕
Kontrolle $\alpha$	0	+	++	+++	+++	+++	+++	⊕	⊕	⊕
$\alpha\alpha$	0	0	0	0	+	+	++	+++	⊕	—
24. März S1	+	+++	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	—
S2	+	+++	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	—	—	—
S3	+	+++	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	—	—	—
Kontrolle $\alpha$	+	+++	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	—	—	—
$\alpha\alpha$	0	0	0	+	++	++	++	⊕	—	—
25. März S1	+	⊕	—	—	—	—	—	—	—	—
S2	+	⊕	—	—	—	—	—	—	—	—
S3	+	⊕	—	—	—	—	—	—	—	—
Kontrolle $\alpha$	++	⊕	—	—	—	—	—	—	—	—
$\alpha\alpha$	0	0	+	+	++	++	++	—	—	—
26. März S1	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—
S2	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—
S3	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Kontrolle $\alpha$	++	—	—	—	—	—	—	—	—	—
$\alpha\alpha$	0	0	+	+	++	++	++	—	—	—
1. April S1	++	—	—	—	—	—	—	—	—	—
S2	++	—	—	—	—	—	—	—	—	—
S3	++	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Kontrolle $\alpha$	++	—	—	—	—	—	—	—	—	—

5. April weitere vergleichende Prüfung.

Proz.	0,75	0,9	1,0	1,25	1,5	2,0	2,5	3,0	3,5	4,0	5,0
$\alpha\alpha$	0	0	0	0	0	+	+	+	+	++	+++
6. April S1	0	+	+	+	++	++	++	⊕	+++	⊕	⊕
S2	0	+	+	+	+	++	++	⊕	+++	⊕	⊕
S3	0	+	+	+	++	++	++	⊕	⊕	⊕	⊕
Kontrolle $\alpha$	0	+	+	++	+++	+++	+++	+++	+++	⊕	⊕
$\alpha\alpha$	0	0	0	0	+	+	++	++	+++	⊕	⊕
7. April S1	+	+++	+++	⊕	⊕	⊕	⊕	+	⊕	—	—
S2	+	+++	+++	⊕	⊕	⊕	⊕	—	⊕	—	—
S3	+	+++	+++	⊕	⊕	⊕	⊕	—	⊕	—	—
Kontrolle $\alpha$	+	+++	+++	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	—	—

Proz.		0,75	0,9	1,0	1,25	1,5	2,0	2,5	3,0	3,5	4,0	5,0
8. April	$\alpha\alpha$	0	0	0	+	+	+	++	++	⊕	—	—
	S1	+	++	⊕	—	—	—	—	—	—	—	—
	S2	+	++	⊕	—	—	—	—	—	—	—	—
	S3	+	++	⊕	—	—	—	—	—	—	—	—
	Kontrolle $\alpha$	+	++	⊕	—	—	—	—	—	—	—	—
9. April	$\alpha\alpha$	0	0	0	+	+	+	++	++	—	—	—
	S1	+	++	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	S2	+	++	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	S3	+	++	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	Kontrolle $\alpha$	+	++	—	—	—	—	—	—	—	—	—
15. April	$\alpha\alpha$	0	0	0	+	+	++	++	++	—	—	—
	S1	+	++	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	S2	++	++	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	S3	+	++	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	Kontrolle $\alpha$	+	++	—	—	—	—	—	—	—	—	—

## 15. April weitere vergleichende Prüfung.

Proz.		0,75	0,9	1,0	1,25	1,5	2,0	2,5	3,0	3,5	4,0
16. April	$\alpha\alpha$	0	0	0	0	0	+	+	+	++	++
	S1	0	+	+	+	+	++	++	++	++++	⊕
	S2	0	+	+	+	+	++	++	++	++++	⊕
	S3	0	+	+	+	+	++	++	++	++++	⊕
	Kontrolle $\alpha$	0	+	+	++	++	+++	+++	⊕	⊕	⊕
17. April	$\alpha\alpha$	0	0	0	0	0	++	++	++	+++	⊕
	S1	+	+	+++	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	—
	S2	+	+	+++	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	—
	S3	+	+	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	—
	Kontrolle $\alpha$	+	++	+++	⊕	⊕	⊕	⊕	—	—	—
18. April	$\alpha\alpha$	0	0	0	0	+	++	++	++	⊕	—
	S1	+	++	⊕	—	—	—	—	—	—	—
	S2	+	++	⊕	—	—	—	—	—	—	—
	S3	+	++	—	—	—	—	—	—	—	—
	Kontrolle $\alpha$	+	++	⊕	—	—	—	—	—	—	—
19. April	$\alpha\alpha$	0	0	0	+	+	++	++	++	—	—
	S1	+	++	—	—	—	—	—	—	—	—
	S2	+	++	—	—	—	—	—	—	—	—
	S3	+	++	—	—	—	—	—	—	—	—
	Kontrolle $\alpha$	+	++	—	—	—	—	—	—	—	—
25. April	$\alpha\alpha$	0	0	0	+	+	++	++	++	—	—
	S1	++	+++	—	—	—	—	—	—	—	—
	S2	++	++	—	—	—	—	—	—	—	—
	S3	++	++	—	—	—	—	—	—	—	—
	Kontrolle $\alpha$	++	++	—	—	—	—	—	—	—	—

1. Mai weitere vergleichende Prüfung.

Proz.		0,75	0,9	1,0	1,25	1,5	2,0	2,5	3,0	3,5
2. Mai	aa	0	0	0	0	+	+	+	++	++
	S1	0	+	+	+	++	++	+++	+++	+++
	S2	0	+	+	+	++	++	+++	+++	+++
	S3	+	+	+	+	+	++	++	+++	+++
	Kontrolle $\alpha$	0	+	+	+	+	++	++	+++	+++
3. Mai	aa	0	0	0	0	+	+	+	++	+++
	S1	+	+	+++	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕
	S2	+	+	+++	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕
	S3	+	+	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕
	Kontrolle $\alpha$	+	+	+++	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕
4. Mai	aa	0	0	0	0	+	+	++	++	⊕
	S1	+	+	⊕	—	—	—	—	—	—
	S2	+	+	⊕	—	—	—	—	—	—
	S3	+	+	—	—	—	—	—	—	—
	Kontrolle $\alpha$	+	+	⊕	—	—	—	—	—	—
5. Mai	aa	0	0	0	0	+	++	++	+++	—
	S1	+	++	—	—	—	—	—	—	—
	S2	+	++	—	—	—	—	—	—	—
	S3	+	++	—	—	—	—	—	—	—
	Kontrolle $\alpha$	+	++	—	—	—	—	—	—	—
10. Mai	aa	0	0	0	+	++	++	++	+++	—
	S1	++	++	—	—	—	—	—	—	—
	S2	+	++	—	—	—	—	—	—	—
	S3	++	++	—	—	—	—	—	—	—
	Kontrolle $\alpha$	+	++	—	—	—	—	—	—	—

20. Mai weitere vergleichende Prüfung.

Proz.		0,75	0,9	1,0	1,25	1,5	2,0	2,5	3,0	3,5	4,0
21. Mai	aa	0	0	0	0	+	+	+	+	+	+++
	S1	0	+	++	++	++	+++	+++	+++	+++	⊕
	S2	0	+	++	++	++	+++	+++	+++	+++	⊕
	S3	0	+	++	++	++	+++	+++	+++	+++	⊕
	Kontrolle $\alpha$	0	+	++	++	++	+++	+++	+++	+++	+++
22. Mai	aa	0	0	0	0	+	+++	+++	+++	⊕	⊕
	S1	+	+	+++	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	—
	S2	+	+	+++	+++	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	—
	S3	+	+	+++	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕
	Kontrolle $\alpha$	+	+	+++	+++	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕
23. Mai	aa	0	0	0	0	++	+++	+++	⊕	—	—
	S1	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—
	S2	+	+	⊕	⊕	—	—	—	—	—	—
	S3	+	+	⊕	⊕	—	—	—	—	—	—
	Kontrolle $\alpha$	+	+	⊕	⊕	—	—	—	—	—	—



	Proz.	0,75	0,9	1,0	1,25	1,5	2,0	2,5	3,0	3,5	4,0
	aa	0	0	0	+	++	+++	+++	-	-	-
24. Mai	S1	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
	S2	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
	S3	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
	Kontrolle $\alpha$	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
	aa	0	0	0	++	++	+++	⊕	-	-	-
31. Mai	S1	+	++	-	-	-	-	-	-	-	-
	S2	+	++	-	-	-	-	-	-	-	-
	S3	+	++	-	-	-	-	-	-	-	-
	Kontrolle $\alpha$	+	++	-	-	-	-	-	-	-	-

S1, S2, S3 werden, da sie seit der Conjugation das gleiche Verhalten wie  $\alpha$  aufweisen, nicht weiter geprüft.

#### 1. Juni weitere Prüfung von aa.

	Proz.	0,75	0,9	1,0	1,25	1,5	2,0	2,5	3,0	3,5	4,0
2. Juni		0	0	0	0	+	+	++	++	+++	⊕
3. "		0	0	+	+	++	+++	⊕	⊕	⊕	-
4. "		0	0	+	+	++	+++	-	-	-	-
5. "		0	+	+	++	++	⊕	-	-	-	-
10. "		+	+	+	++	+++	-	-	-	-	-

Kontrolle  $\alpha$  abgetötet durch 1 Proz.

#### 10. Juni weitere Prüfung.

11. Juni		0	0	0	0	+	++	++	+++	-	-
12. "		0	+	+	+	++	⊕	⊕	⊕	-	-
13. "		0	+	+	++	++	-	-	-	-	-
14. "		0	+	+	++	+++	-	-	-	-	-
20. "		+	+	++	++	+++	-	-	-	-	-

Kontrolle  $\alpha$  abgetötet durch 1 Proz.

#### 25. Juni weitere Prüfung.

	Proz.	0,75	0,9	1,0	1,25	1,5	2,0	2,5	3,0	3,5	4,0
26. Juni		0	0	+	+	++	++	++	++	-	-
27. "		0	+	+	+++	⊕	⊕	⊕	⊕	-	-
28. "		0	+	++	+++	-	-	-	-	-	-
29. "		+	+	++	+++	-	-	-	-	-	-
5. Juli		+	+	+++	⊕	-	-	-	-	-	-

Kontrolle  $\alpha$  abgetötet durch 1 Proz.

#### 5. Juli weitere Prüfung.

6. Juli		0	0	+	+	+	++	++	⊕	-	-
7. "		+	+	+++	+++	⊕	⊕	⊕	-	-	-
8. "		+	+	+++	⊕	-	-	-	-	-	-
9. "		+	++	⊕	-	-	-	-	-	-	-
15. "		+	++	-	-	-	-	-	-	-	-

Kontrolle  $\alpha$  abgetötet durch 1 Proz.

## 12. Juli weitere Prüfung.

Proz.	0,75	0,9	1,0	1,25	1,5	2,0	2,5	3,0	3,5	4,0
13. Juli	0	0	+	+	+	+++	—	⊕	—	—
14. "	+	+	+++	⊕	⊕	⊕	—	—	—	—
15. "	+	++	⊕	—	—	—	—	—	—	—
16. "	+	++	—	—	—	—	—	—	—	—
20. "	+	++	—	—	—	—	—	—	—	—

Kontrolle  $\alpha$  abgetötet durch 1 Proz.

## 15. September letzte Prüfung.

16. Septbr.	0	0	+	+	++	++	—	⊕	—	—
17. "	+	+	⊕	⊕	⊕	⊕	—	—	—	—
18. "	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—
19. "	+	++	—	—	—	—	—	—	—	—
22. "	+	++	—	—	—	—	—	—	—	—

Kontrolle  $\alpha$  abgetötet durch 1 Proz.

Fassen wir die Ergebnisse dieser in den Protokollen 1 bis 6 genauer geschilderten Versuche zusammen, so finden wir: Unter der Einwirkung zeitweilig über die „Maxima tolerata“-Dosis hinaus gesteigerter Lösungen von arseniger Säure treten bei Klonen mehrerer verschiedener Stämme von *Paramaecium caudatum* erhebliche Steigerungen der Widerstandsfähigkeit gegenüber diesem Gifte auf, unter Umständen Anpassungen bis an das fünffache der normalerweise für den betreffenden Stamm gerade tödlichen Konzentration.

Diese Umstimmungen bleiben auch bei Zurückversetzung und dauernder Weiterzucht in arsenfreiem Medium lange Zeit, in den bisher geschilderten Versuchen viele Monate und durch hunderte von Teilungsschritten hindurch erhalten. Sie klingen aber stets schon bei normaler Kultur in arsenfreier Lösung wieder vollständig ab. Beschleunigen läßt sich dieser Rückbildungsprozeß durch häufigen, möglichst schroffen Wechsel der äußeren Bedingungen. Mit einem Schlage endlich erfolgt ein Rückschlag zur Ausgangsform im Zusammenhang mit einer Conjugation.

All diese Verhältnisse treten besonders klar in dem weiteren Protokoll 7 hervor. Die hierin niedergelegten ausgedehnten Versuchsreihen mit Stamm  $\alpha$  erlauben uns aber, noch etwas weiter in der Analyse dieser Erscheinungen vorzudringen: Zunächst sehen wir wieder eine erhebliche Steigerung der Widerstandsfähigkeit gegenüber arseniger Säure. Wir sehen weiter die sofortige vollständige Rückbildung der hervorgerufenen Umstimmung im Zu-

sammenhänge mit einer erzwungenen Conjugationsepidemie (Abzweigung  $\alpha$  B 4 c) und eine gewisse Beschleunigung des Abklingens der Resistenzsteigerung bei den nicht wie bei  $\alpha$  B 4 c aus Exconjuganten, sondern aus nicht zur Conjugation gelangten, wohl aber den gleichen veränderten Bedingungen wie die zur Conjugation gelangten Paramäcien ausgesetzt gewesenen Individuen gewonnenen Zuchten (Abzw.  $\alpha$  B 4 R 1 bis  $\alpha$  B 4 R 3). Diese Beobachtung zeigt uns somit, daß es tatsächlich die Conjugation bzw. im unmittelbaren Zusammenhänge mit der Conjugation stehende intracelluläre Vorgänge sind, die die sofortige plötzliche Rückbildung der erworbenen Widerstandsfähigkeit bei den Exconjuganten bedingen. Darüber hinaus können wir aus Protokoll 7 aber noch bis zu einem gewissen Grade das Zustandekommen und auch das Wiederabklingen der Resistenzsteigerung genauer erkennen. Wir sehen, daß die Steigerung sowohl wie das Schwinden der Giftfestigung nicht, wie es zuerst den Anschein haben konnte, ganz allmählich und fließend, sondern offenbar in einer Reihe von kleineren Sprüngen zustande kommt. So wurde bei  $\alpha$  in dieser Versuchsreihe durch die Behandlung vom 7. März bis 4. Juni 1913 eine Steigerung der maximalen vertragenen Dosis von 1,2<sup>1)</sup> auf 2 Proz. der arsenigen Säure erzielt (Abzweigung  $\alpha$  A). Die weitere Behandlung vom 4. Juni bis 22. August brachte eine weitere Steigerung der Widerstandsfähigkeit bis gegen eine 3proz. Lösung (Abzweigung  $\alpha$  B 1). Die Fortsetzung der Beeinflussung durch übertödliche Konzentrationen vom 22. August bis 10. Oktober 1913 führte dagegen zu keiner weiteren Steigerung der Widerstandsfähigkeit gegenüber der arsenigen Säure (Abzweigung  $\alpha$  B 2). Die bereits am 22. August erreichte Resistenz gegenüber einer 3proz. Lösung wurde auch nach der intensiven Weiterbehandlung unverändert beibehalten. Eine Fortsetzung der Beeinflussungsversuche bis zum 19. Dezember brachte noch einmal eine Steigerung der maximal vertragenen Konzentration bis auf 3,5 Proz. (Abzweigung  $\alpha$  B 3), während die Weiterführung bis April 1914 (Abzweigung  $\alpha$  B 4) und dann bis Ende August 1914 (Abzweigung  $\alpha$  B 5) keine weitergehende Festigung hervorrufen konnte. Eine Anpassung an eine 3,5proz. Lösung unserer arsenigen Säure scheint somit für Stamm  $\alpha$  das Maximum des in dieser Hinsicht Erreichbaren darzustellen.

<sup>1)</sup> Die Versuche der Jahre 1913/14 wurden nicht an Salatwasser, sondern an Bouillonkulturen durchgeführt, in denen, wie in der Einleitung angegeben, die Widerstandsfähigkeit des Stammes  $\alpha$  gegenüber der arsenigen Säure eine etwas höhere war.

Protokoll 7.  
Dauermodifikationen.

Stamm  $\alpha$ .

Maxima tolerata-Dosis in Bouillon nach WOODRUFF = 1,1 bis 1,2 Proz. (in Salatwasser 0,9 Proz.).

7. März 1913 üppige Kultur, wird in 0,5proz. arseniger Säure in Bouillon bei Zimmertemperatur gebracht, hierin weitergezüchtet.

12. März kaum verändert üppig, wird auf 24 Stunden in 1,5 Proz. gebracht, dann zurück in 0,5 Proz.

15. März + bis ++.

19. März reiche Kultur, wird auf 48 Stunden in 2 Proz. gebracht, dann zurück in 0,5 Proz.

24. März +++.

29. März reiche Kultur, wird auf 48 Stunden in 3,5 Proz. gebracht, dann zurück in 0,5 Proz.

2. April nur noch vier lebende Paramäcien gefunden.

15. April wieder reiche Kultur, wird auf 18 Stunden in 5 Proz. gebracht, dann zurück in 0,5 Proz.

18. April nur vereinzelte Paramäcien.

23. April wieder reiche Kultur, auf sechs Stunden in 6 Proz., dann zurück in 0,5 Proz.

25. April nur vereinzelte Paramäcien am Leben.

2. Mai wieder gute Kultur, auf 30 Stunden in 4 Proz., dann zurück in 0,5 Proz.

6. Mai nur vereinzelte Infusorien am Leben.

17. Mai wieder gute Kultur, auf 48 Stunden in 4 Proz., dann zurück in 0,5 Proz.

20. Mai nur zwei lebende Paramäcien gefunden.

31. Mai lebhafte Vermehrung.

4. Juni wieder reiche Kultur, wird geteilt, der eine Teil (als  $\alpha A$  bezeichnet) wird in arsenfreie 0,025proz. Bouillon überführt und hierin bei Zimmertemperatur dauernd weitergezüchtet. Der andere Teil,  $\alpha B$ , weiter behandelt.

$\alpha A$

11. Juni Prüfung der Arsenresistenz.

Proz.	0,9	1,1	1,25	1,5	2,0	2,5	3,0
12. Juni	0	0	+	+	+	+	+
13. "	0	0	+	+	+	+++	+++
14. "	+	+	+	+	+	+++	+++
15. "	+	+	+	++	++	⊕	⊕
20. "	+	+	+	++	++	-	-

Kontrolle  $\alpha$  abgetötet durch 1,25 Proz.

## 20. Juni abermalige Prüfung.

Proz.	0,9	1,1	1,25	1,5	2,0	2,25	2,5	3,0
21. Juni	0	0	0	+	+	+	+	+
22. "	0	0	+	+	+	++	+++	+++
23. "	0	0	+	+	+	+++	+++	+++
24. "	+	+	+	+	++	+++	⊕	⊕
30. "	+	+	+	++	++	⊕	-	-

Kontrolle  $\alpha$  abgetötet durch 1,25 Proz.

## 2. Juli abermalige Prüfung.

3. Juli	0	0	0	0	+	+	+	++
4. "	0	0	+	+	+	++	+++	+++
5. "	0	+	+	+	++	+++	+++	⊕
6. "	+	+	+	+	++	+++	⊕	-
9. "	+	+	+	++	++	⊕	-	-

Kontrolle  $\alpha$  abgetötet durch 1,25 Proz.

## 15. August abermalige Prüfung.

16. August	0	0	+	+	+	+	+	+
18. "	0	++	++	++	+++	+++	+++	⊕
20. "	++	++	+++	⊕	⊕	⊕	⊕	-
22. "	++	++	⊕	-	-	-	-	-

Kontrolle  $\alpha$  abgetötet durch 1,25 Proz.

## 1. September letzte Prüfung.

Proz.	0,9	1,1	1,25	1,5	1,75	2,0	2,5	3,0
2. September	0	0	+	+	+	+	+	+
4. "	+	++	++	++	++	+++	⊕	⊕
6. "	+	++	⊕	⊕	⊕	⊕	-	-
10. "	++	++	-	-	-	-	-	-

Kontrolle  $\alpha$  abgetötet durch 1,25 Proz. $\alpha$ B

4. Juni  $\alpha$ B auf zehn Stunden in 6 Proz., dann zurück in 0,5 Proz.  
 7. Juni nur vereinzelte Paramäcien am Leben.  
 18. Juni wieder reiche Kultur wird auf 30 Stunden in 4 Proz. gebracht, dann zurück in 0,5 Proz.  
 21. Juni +++.  
 25. Juni leidliche Kultur, auf 60 Stunden in 3,5 Proz., dann zurück in 0,5 Proz.  
 28. Juni nur sechs lebende Paramäcien gefunden.  
 2. Juli Vermehrung.  
 9. Juli wieder reiche Kultur, wird nunmehr vom 9. Juli bis 15. August in 1 Proz. gebracht.  
 15. August mäßig bevölkerte Kultur, wird wieder in 0,5 Proz. gebracht.  
 22. August wieder reiche Kultur, wird geteilt,  $\alpha$ B1 in arsenfreie Bouillonlösung überführt,  $\alpha$ B2 weiterbehandelt.

α B1

29. August Prüfung der Arsenresistenz.

Proz.	0,9	1,1	1,25	1,5	2,0	2,5	3,0	3,5	4,0
30. August	0	0	0	+	+	+	+	+	+
31. "	0	0	+	+	+	+	+	++	+++
1. September	+	+	+	+	++	++	++	+++	⊕
8. "	+	+	+	+	++	++	++	⊕	-

Kontrolle α abgetötet durch 1,25 Proz.

15. September weitere Prüfung.

17. September	0	0	+	+	++	++	++	++	++
18. "	+	+	+	+	++	++	++	⊕	⊕
22. "	+	+	+	++	++	++	++	-	-

10. Oktober weitere Prüfung.

11. Oktober	0	0	0	+	+	+	+	+	+++
13. "	+	+	+	+	++	++	++	⊕	⊕
14. "	+	+	+	++	++	++	++	-	-
20. "	+	+	+	++	++	++	++	-	-

α B<sub>2</sub>

22. August auf 30 Stunden in 5 Proz., dann zurück in 0,5 Proz.

25. August nur acht Paramäcien am Leben.

5. September reiche Kultur, auf 39 Stunden in 4 Proz., dann zurück in 0,5 Proz.

10. September nur fünf lebende Paramäcien gefunden.

21. September wieder reiche Kultur auf zwölf Stunden in 6 Proz., dann zurück in 0,5 Proz.

22. September noch zwei lebende Paramäcien gefunden.

10. Oktober wieder reiche Kultur, von der ein Teil — α B2 — in arsenfreie Bouillon überführt, der Rest — α B3 — weiter behandelt wird.

α B1 und α B2.

20. Oktober Prüfung von α B1 und α B2.

Proz.	0,9	1,1	1,25	1,5	2,0	2,5	3,0	3,5	4,0
21. Oktober α B1	0	0	0	+	+	+	++	++	++
α B2	0	0	0	+	++	++	++	+++	+++
22. " α B1	0	0	+	+	+	+	++	+++	+++
α B2	0	0	0	+	++	++	++	+++	+++
24. " α B1	+	+	+	+	++	++	++	⊕	⊕
α B2	+	+	+	+	++	++	+++	⊕	⊕
28. " α B1	+	+	+	++	++	++	++	-	-
α B2	+	+	+	++	++	++	+++	-	-

Kontrolle α abgetötet durch 1,25 Proz.

5\*

## 7. November abermalige Prüfung.

	Proz.	0,9	1,1	1,25	1,5	2,0	2,5	3,0	3,5	4,0
8. November	$\alpha$ B1	0	0	0	0	+	+	++	+++	+++
	$\alpha$ B2	0	0	0	+	+	+	++	++	+++
9. "	$\alpha$ B1	0	0	+	+	++	++	++	+++	+++
	$\alpha$ B2	0	0	+	+	++	++	++	+++	+++
10. "	$\alpha$ B1	0	+	+	+	++	++	+++	⊕	⊕
	$\alpha$ B2	+	+	+	+	+++	++	++	⊕	⊕
15. "	$\alpha$ B1	+	+	+	+	+++	++	+++	—	—
	$\alpha$ B2	+	+	+	++	+++	+++	+++	—	—

Kontrolle  $\alpha$  abgetötet durch 1,25 Proz.

## 10. Dezember abermalige Prüfung.

	Proz.	1,0	1,25	1,5	2,0	2,5	3,0	3,5	4,0
11. Dezember	$\alpha$ B1	0	0	+	+	+	++	++	++
	$\alpha$ B2	0	0	+	+	+	+	+	++
12. "	$\alpha$ B1	0	+	++	++	+++	+++	++++	++++
	$\alpha$ B2	0	0	+	++	++	++	+++	++++
15. "	$\alpha$ B1	+	+	++	++	⊕	⊕	⊕	⊕
	$\alpha$ B2	0	+	+	++	++	++	⊕	⊕
19. "	$\alpha$ B1	+	++	++	+++	—	—	—	—
	$\alpha$ B2	+	+	++	++	++	+++	—	—

Kontrolle  $\alpha$  abgetötet durch 1,25 Proz. $\alpha$  B3

10. Oktober auf 24 Stunden in 5 Proz., dann zurück in 0,5 Proz.  
 13. Oktober nur vereinzelte Paramäcien am Leben.  
 20. Oktober leidliche Kultur; auf 48 Stunden in 4 Proz., dann zurück in 0,5 Proz.  
 24. Oktober vereinzelte Paramäcien am Leben.  
 7. November reiche Kultur; auf 18 Stunden in 6 Proz., dann zurück in 0,5 Proz.  
 10. November nur noch ein lebendes *Paramaecium* gefunden.  
 3. Dezember reiche Kultur; auf 30 Stunden in 4 Proz., dann zurück in 0,5 Proz.  
 6. Dezember +++.  
 15. Dezember reiche Kultur; auf 40 Stunden in 4,5 Proz., dann zurück in 0,5 Proz.  
 19. Dezember nur zwei lebende Paramäcien gefunden.  
 6. Januar 1914 wieder reiche Kultur; wird geteilt —  $\alpha$  B3 — (die eine Hälfte) in arsenfreie Liebig-Fleischextraktbouillon überführt, die andere Hälfte —  $\alpha$  B4 — weiter behandelt.

α B1, α B2, α B3.

12. Januar 1914 Prüfung der Arsenresistenz.

Proz.	1,0	1,25	1,5	2,0	2,5	3,0	3,5	4,0
13. Januar α B1	+	+	+	++	+++	+++	++++	++++
α B2	0	0	+	+	+	++	+++	+++
α B3	0	0	+	+	+	++	++	+++
15. " α B1	++	++	+++	+++	⊕	⊕	⊕	⊕
α B2	+	+	++	++	+++	+++	++++	+++
α B3	0	0	+	++	++	++	++	+++
19. " α B1	++	⊕	⊕	⊕	—	—	—	—
α B2	+	+	++	++	⊕	⊕	⊕	—
α B3	0	+	+	++	++	++	+++	⊕

Kontrolle α abgetötet durch 1,25 Proz.

5. Februar abermalige Prüfung.

7. Februar α B1	+	++	+++	+++	+++	+++	++++	⊕
α B2	+	+	++	++	+++	+++	+++	+++
α B3	0	0	0	+	+	++	++	+++
9. " α B1	++	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	—
α B2	+	+	++	++	⊕	⊕	⊕	⊕
α B3	0	0	+	++	++	++	++	⊕
14. " α B1	++	—	—	—	—	—	—	—
α B2	++	++	+++	+++	—	—	—	—
α B3	+	+	+	++	++	++	++	—

Kontrolle α abgetötet durch 1,25 Proz.

21. Februar abermalige Prüfung.

23. Februar α B1	+	+++	+++	+++	+++	+++	+++	⊕
α B2	+	+++	+++	+++	+++	+++	+++	⊕
α B3	0	0	+	++	++	++	+++	+++
25. " α B1	+	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	—
α B2	+	+++	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	—
α B3	+	+	+	++	++	++	+++	⊕
28. " α B1	++	—	—	—	—	—	—	—
α B2	++	⊕	—	—	—	—	—	—
α B3	+	+	+	++	++	++	+++	—

Kontrolle α abgetötet durch 1,25 Proz.

28. Februar letzte Prüfung für α B1 und α B2.

2. März α B1	+	++	+++	+++	+++	+++	⊕	⊕
α B2	+	++	+++	+++	+++	+++	⊕	⊕
α B3	0	0	+	++	++	++	+++	+++
4. " α B1	+	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	—	—
α B2	+	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	—	—
α B3	0	+	+	++	++	++	+++	⊕
7. " α B1	++	—	—	—	—	—	—	—
α B2	++	—	—	—	—	—	—	—
α B3	+	+	++	++	++	++	+++	—

Kontrolle α abgetötet durch 1,25 Proz.



α B 4

6. Januar auf 48 Stunden in 3,5 Proz., dann zurück in 0,5 Proz.  
 9. Januar +++.  
 13. Januar leidliche Kultur; auf 48 Stunden in 4,5 Proz., dann zurück in 0,5 Proz.  
 17. Januar nur noch ein lebendes *Paramaecium* gefunden.  
 5. Februar reiche Kultur; auf 30 Stunden in 4 Proz., dann zurück in 0,5 Proz.  
 9. Februar +++.  
 14. Februar reiche Kultur; auf sechs Stunden in 6 Proz., dann zurück in 0,5 Proz.  
 16. Februar +++.  
 25. Februar leidliche Kultur; auf 30 Stunden in 4 Proz., dann auf 48 Stunden in 2 Proz., dann zurück in 0,5 Proz.  
 2. März +++.  
 9. März gute Kultur; auf 48 Stunden in 4 Proz., dann zurück in 0,5 Proz.  
 14. März +++.  
 21. März reiche Kultur; auf 48 Stunden in 4,5 Proz., dann auf drei Tage in 1,25 Proz.  
 28. März vier lebende Paramäcien gefunden.  
 6. April mäßige Kultur; wird geteilt, als α B 4 in arsenfreie Bouillon überführt, als α B 5 in 1,25 Proz. weitergezüchtet und weiter behandelt.

α B 5.

11. April reiche Kultur; auf 48 Stunden in 4 Proz., dann zurück in 1,25 Proz.  
 15. April vereinzelte Paramäcien am Leben.  
 29. April gute Kultur; auf 24 Stunden in 5 Proz., dann zurück in 1,25 Proz.  
 2. Mai vereinzelte Paramäcien am Leben.  
 19. Mai gute Kultur; auf 32 Stunden in 5 Proz., dann zurück in 1,25 Proz.  
 23. Mai nur zwei lebende Paramäcien gefunden (auch diese anscheinend geschädigt).  
 20. Juni wieder reiche Kultur; auf 48 Stunden in 4 Proz., dann zurück in 1,25 Proz.  
 24. Juni nur ganz vereinzelte Paramäcien am Leben.  
 6. Juli reiche Kultur; auf 30 Stunden in 4,5 Proz., dann zurück in 1,25 Proz.  
 10. Juli fünf lebende Paramäcien gefunden.  
 20. Juli mäßige Kultur; auf 72 Stunden in 3,5 Proz., dann zurück in 1,25 Proz.  
 24. Juli +++.  
 4. August gute Kultur; auf 36 Stunden in 4,5 Proz., dann zurück in 1,25 Proz.  
 8. August ein lebendes *Paramaecium* gefunden.  
 23. August gute Kultur; wird geteilt als α B 5 in arsenfreie Bouillon überführt, als α B 6 weiterbehandelt.

α B 6.

23. August auf 48 Stunden in 4 Proz., dann in 0,5 Proz. versetzt, darin weitergehalten.  
 27. August vereinzelte Paramäcien am Leben.  
 1. September gute Kultur.  
 Versuch aus äußeren Gründen abgebrochen.

α B3 und α B4.

11. April Prüfung der Arsenresistenz.

Proz.	1,0	1,25	1,5	2,0	2,5	3,0	3,5	4,0	5,0
13. April α B3	0	0	+	++	+++	++++	+++++	+++++	⊕
α B4	0	0	+	+	++	+++	+++	+++++	⊕
15. " α B3	0	+	+	++	+++	+++	⊕	⊕	—
α B4	0	0	+	+	++	+++	+++	⊕	—
18. " α B3	+	+	+	+++	+++	+++	—	—	—
α B4	0	0	+	++	+++	+++	+++	—	—
25. April abermalige Prüfung.									
27. April α B3	0	+	+	++	+++	+++	⊕	⊕	⊕
α B4	0	0	+	+	++	++	+++	+++++	⊕
29. " α B3	+	+	++	++	++++	⊕	—	—	—
α B4	0	0	+	+	++	+++	+++	⊕	—
2. Mai α B3	+	+	++	+++	⊕	—	—	—	—
α B4	0	0	+	++	++	+++	+++	—	—

2. Mai. In einer Abzweigung von α B4 (als α B4R bezeichnet) ist durch Versetzung in 0,75proz. Rohrzuckerlösung (auf 5 Tage), dann Überführung in abgekochtes Leitungswasser und 26° Thermostaten Conjugationsepäemie mäßigen Grades erzielt worden. Es werden daraus 25 Conjugationspärchen isoliert und zusammen als Kultur α B4C in normale Bouillon überführt und darin weitergezüchtet. Ferner werden dreimal je drei sicher nicht zur Conjugation gelangte Paramäcien der gleichen Kultur in Bouillon überführt und darin weitergezogen als α B4 R1, α B4 R2, α B4 R3.

α B3, α B4, α B4 R1 bis R3 und α B4C.

23. Mai Prüfung der Arsenfestigkeit.

Proz.	1,0	1,25	1,5	2,0	2,5	3,0	3,5	4,0	5,0
25. Mai α B3	+	+	++	+++	+++	+++	+++++	+++++	⊕
α B4	0	0	+	+	+	++	++	+++++	⊕
α B4 R1	0	+	+	++	++	++	+++	⊕	⊕
α B4 R2	0	+	+	++	++	+++	+++	⊕	⊕
α B4 R3	0	+	+	+	++	++	+++	+++++	⊕
α B4 C	+	+++	+++	++++	++++	++++	⊕	⊕	⊕
27. Mai α B3	+	++	++	+++	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕
α B4	0	+	+	+	++	++	+++	⊕	—
α B4 R1	+	+	+	+++	+++	+++	⊕	—	—
α B4 R2	+	+	+	+++	+++	+++	⊕	—	—
α B4 R3	0	+	+	++	+++	+++	⊕	—	—
α B4 C	++	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	—	—	—
1. Juni α B3	+	++	++	+++	—	—	—	—	—
α B4	0	+	+	++	++	+++	+++	—	—
α B4 R1	+	+	+	+++	+++	+++	—	—	—
α B4 R2	+	+	+	+++	+++	+++	—	—	—
α B4 R3	0	+	+	+++	+++	+++	—	—	—
α B4 C	++	—	—	—	—	—	—	—	—

Kontrolle α abgetötet durch 1,25 Proz.

$\alpha$  B3,  $\alpha$  B4,  $\alpha$  B4 R1 — R3,  $\alpha$  B4 C.

8. Juni abermalige Prüfung.

Proz.		1,0	1,25	1,5	2,0	2,5	3,0	3,5	4,0	5,0
10. Juni	$\alpha$ B3	+	++	+++	+++	+++	++++	⊕	++++	⊕
	$\alpha$ B4	0	0	+	+	++	++	++	+++	⊕
	$\alpha$ B4 R1	0	+	+	++	+++	+++	+++	⊕	⊕
	$\alpha$ B4 R2	0	+	+	++	+++	+++	+++	+++	⊕
	$\alpha$ B4 R3	0	+	+	++	+++	+++	+++	+++	⊕
	$\alpha$ B4 C	+	+++	+++	+++	++++	⊕	⊕	⊕	⊕
13. Juni	$\alpha$ B3	++	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	—	⊕	—
	$\alpha$ B4	0	+	+	++	++	+++	+++	—	—
	$\alpha$ B4 R1	0	+	++	++	+++	+++	+++	—	—
	$\alpha$ B4 R2	0	+	++	++	+++	+++	⊕	⊕	—
	$\alpha$ B4 R3	0	++	++	+++	+++	+++	—	⊕	—
	$\alpha$ B4 C	++	⊕	⊕	⊕	⊕	—	—	—	—
15. Juni	$\alpha$ B3	++	—	—	—	—	—	—	—	—
	$\alpha$ B4	0	+	+	++	++	+++	+++	—	—
	$\alpha$ B4 R1	+	++	++	+++	+++	⊕	—	—	—
	$\alpha$ B4 R2	0	++	++	+++	+++	+++	—	—	—
	$\alpha$ B4 R3	+	++	++	+++	+++	+++	—	—	—
	$\alpha$ B4 C	++	—	—	—	—	—	—	—	—

Kontrolle  $\alpha$  abgetötet durch 1,25 Proz.

24. Juni abermalige Prüfung.

26. Juni	$\alpha$ B3	+	+++	+++	+++	+++	+++	⊕	⊕	—
	$\alpha$ B4	0	++	+	++	+++	+++	+++	⊕	—
	$\alpha$ B4 R1	+	++	++	++	+++	+++	⊕	⊕	—
	$\alpha$ B4 R2	+	++	++	++	+++	+++	⊕	⊕	—
	$\alpha$ B4 R3	+	++	++	++	+++	+++	⊕	⊕	—
	$\alpha$ B4 C	+	+++	+++	+++	+++	⊕	⊕	⊕	—
29. Juni	$\alpha$ B3	++	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	—	—	—
	$\alpha$ B4	0	+	+	+++	+++	+++	+++	—	—
	$\alpha$ B4 R1	++	++	+++	+++	⊕	⊕	—	—	—
	$\alpha$ B4 R2	+	++	+++	+++	⊕	⊕	—	—	—
	$\alpha$ B4 R3	+	++	+++	+++	⊕	⊕	—	—	—
	$\alpha$ B4 C	++	⊕	⊕	⊕	⊕	—	—	—	—
2. Juli	$\alpha$ B3	++	—	—	—	—	—	—	—	—
	$\alpha$ B4	0	+	+	+++	+++	+++	+++	—	—
	$\alpha$ B4 R1	++	++	+++	+++	—	—	—	—	—
	$\alpha$ B4 R2	+	++	+++	+++	—	—	—	—	—
	$\alpha$ B4 R3	+	++	+++	+++	—	—	—	—	—
	$\alpha$ B4 C	++	—	—	—	—	—	—	—	—

15. Juli abermalige Prüfung (Kultur  $\alpha$  B4 R2 und  $\alpha$  B4 R3 durch Versehen abgetötet).

Proz.		1,0	1,25	1,5	2,0	2,5	3,0	3,5	4,0
17. Juli	$\alpha$ B3	+	+++	+++	++++	⊕	⊕	⊕	⊕
	$\alpha$ B4	0	+	++	++	+++	+++	+++	⊕
	$\alpha$ B4 R1	+	++	++	+++	+++	+++	+++	⊕
	$\alpha$ B4 C	++	+++	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕
20. Juli	$\alpha$ B3	++	⊕	⊕	⊕	-	-	-	-
	$\alpha$ B4	+	+	++	++	+++	+++	⊕	-
	$\alpha$ B4 R1	+	++	+++	+++	⊕	⊕	⊕	-
	$\alpha$ B4 C	++	⊕	-	-	-	-	-	-
24. Juli	$\alpha$ B3	++	-	-	-	-	-	-	-
	$\alpha$ B4	+	+	++	++	+++	+++	-	-
	$\alpha$ B4 R1	++	++	+++	+++	-	-	-	-
	$\alpha$ B4 C	+++	-	-	-	-	-	-	-

Kontrolle  $\alpha$  abgetötet durch 1,25 Proz.

$\alpha$  B3 und  $\alpha$  B4 C werden, da in ihrem Verhalten kein Unterschied gegen  $\alpha$  mehr nachweisbar, nicht mehr weitergeführt.

$\alpha$  B4,  $\alpha$  B4 R1 und  $\alpha$  B5.

4. August abermalige Prüfung.

Proz.		1,0	1,25	1,5	2,0	2,5	3,0	3,5	4,0
6. August	$\alpha$ B4	0	+	+	++	++	++	+++	⊕
	$\alpha$ B4 R1	+	++	+++	+++	++++	++++	⊕	⊕
8. August	$\alpha$ B4	+	+	++	+++	+++	+++	⊕	-
	$\alpha$ B4 R1	++	+++	⊕	⊕	⊕	⊕	-	-
11. August	$\alpha$ B4	+	+	++	+++	+++	+++	-	-
	$\alpha$ B4 R1	++	+++	-	-	-	-	-	-

Kontrolle  $\alpha$  abgetötet durch 1,25 Proz.

28. August abermalige Prüfung.

30. August	$\alpha$ B4	+	+	++	+++	++++	++++	⊕	⊕
	$\alpha$ B4 R1	++	+++	+++	++++	⊕	⊕	+++	+++
	$\alpha$ B5	0	++	+	++	+	+++	+++	+++
1. September	$\alpha$ B4	+	++	+++	+++	⊕	⊕	-	-
	$\alpha$ B4 R1	++	⊕	⊕	⊕	-	-	-	-
	$\alpha$ B5	+	++	+	+++	+++	+++	+++	⊕
8. September	$\alpha$ B4	++	++	+++	+++	-	-	-	-
	$\alpha$ B4 R1	++	-	-	-	-	-	-	-
	$\alpha$ B5	+	++	++	+++	+++	+++	+++	-

Kontrolle  $\alpha$  abgetötet durch 1,25 Proz.

8. September letzte Prüfung (da Versuch aus äußeren Gründen abgebrochen werden mußte).

Proz.	1,0	1,25	1,5	2,0	2,5	3,0	3,5	4,0
15. September $\alpha$ B 4	++	+++	+++	+++	⊕	⊕	⊕	⊕
$\alpha$ B 4 R 1	++	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕
$\alpha$ B 5	+	+	+	++	++	+++	+++	⊕
$\alpha$ (Kontrolle)	++	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕

Noch wichtiger als diese genauere Untersuchung der erzielten Steigerungen der Widerstandsfähigkeit dürften aber die Beobachtungen über das Abklingen der Veränderung sein, die wir gleichfalls an der Hand von Protokoll 7 verfolgen können: Wir sehen, daß die am 11. Juni zuerst nachgewiesene erste Resistenzsteigerung, die Anpassung an eine 2proz. Konzentration, am 20. Juni und 2. Juli unverändert fortbestand, während die nächste Prüfung am 15. August wie auch die weitere vom 1. September einen vollständigen Rückschlag zum Verhalten des Ausgangsstammes, eine maximale vertragene Konzentration von nur 1,1 Proz. zeigt. Die folgende am 29. August nachgewiesene Steigerung der Widerstandsfähigkeit ( $\alpha$  B 1) bis gegenüber einer 3proz. Lösung ist am 7. November noch unverändert, am 10. Dezember dagegen finden wir den Beginn des Rückschlages; die Kultur verträgt nur mehr eine Maximalkonzentration von 2 Proz., ist also auf die erste (von  $\alpha$  A) zuvor erreichte Stufe der Steigerung zurückgegangen und schlägt erst von dort, wie die weitere Prüfung am 12. Januar 1914 zeigt, zum Verhalten der Stammform  $\alpha$  zurück, die bereits durch eine 1,25proz. Lösung von arseniger Säure abgetötet wurde. Ganz entsprechend sehen wir bei der weiteren Subkultur ( $\alpha$  B 2), die noch einige Monate länger als  $\alpha$  B 1 der Behandlung mit übertödlichen Konzentrationen von arseniger Säure unterworfen worden war, ohne daß eine weitere Resistenzsteigerung erzielt wurde, von der Widerstandsfähigkeit gegenüber einer 3proz. Lösung zunächst ein Zurückgehen auf die primär erreichte Resistenzstufe von 2 Proz. und erst von dort den vollständigen Rückgang zum Ausgangsstamm (etwa 1,1 Proz.). Und ebenso schlagen die Kulturen  $\alpha$  B 3 und  $\alpha$  B 4, bei denen eine nochmalige Erhöhung der Widerstandsfähigkeit, bis zu einer Maximalkonzentration von 3,5 Proz. erzwungen worden war, zunächst auf die vorangegangene Resistenzstufe von  $\alpha$  B 1 (3 Proz.), von dort auf die 2proz. (von  $\alpha$  A) und erst in einer dritten Etappe zum Verhalten des Ausgangsstammes (1,1 Proz.) zurück.

Stufenweise wie die Steigerung erfolgt also auch das Schwinden der erworbenen Widerstandsfähigkeit. Die Zeit, die zur Rückbildung unter den normalen Kulturbedingungen des arsenfreien Mediums gebraucht wird, ist für die einzelnen Zweige ungefähr die gleiche, wenn auch mitunter eine Verkürzung der Rückbildungsdauer vorkommt. All dies gilt aber nur für die normalen Kulturbedingungen; ein schroffer Wechsel beschleunigt die etappenweise Rückbildung, ohne prinzipiell etwas an ihr zu ändern. Die Conjugation dagegen bringt mit einem Schlage<sup>1)</sup> eine Rückkehr zum Ausgangsstamm, ohne daß sich Zwischenstufen nachweisen ließen. —

Manche Punkte bleiben bei diesen langdauernden Abänderungen der Widerstandsfähigkeit unserer Paramäcien gegenüber arseniger Säure noch aufzuklären. Vor allem wären die Beziehungen zur Parthenogenesis festzustellen, Beziehungen, an die in den Jahren 1910—1914 kaum gedacht werden konnte (da ja der von R. HERTWIG 1889 festgestellte parthenogenetische Prozeß bis zu seiner Wiederauffindung und genaueren Untersuchung durch WOODRUFF und ERDMANN [1914] im allgemeinen nur als Ausnahmeerscheinung angesehen wurde) und für deren Vorhandensein gerade das unter einigermaßen konstanten Außenbedingungen stufenweise ziemlich regelmäßig erfolgende Abklingen der Giftfestigung zu sprechen scheint. Auch die Beschleunigung des Abklingens der Veränderung bei häufigem und schroffem Wechsel der Außenbedingungen ist vielleicht in erster Linie auf unter solchen Umständen häufig auftretende Parthenogenesisen zurückzuführen.

Leider konnte eine solche weitere Analyse wie auch die Klärstellung vieler anderer im Zusammenhange mit den Steigerungen der Widerstandsfähigkeit unserer Paramäcien gegenüber arseniger Säure sich aufdrängender Fragen bisher nicht durchgeführt werden, da eine längere, durch die Zeitverhältnisse 1914 aufgezwungene Unterbrechung der Untersuchungen zum Untergange sämtlicher seit dem Jahre 1910 gezüchteten geeigneten Paramäcienstämme führte

<sup>1)</sup> In einer Besprechung meiner vorläufigen Mitteilung (JOLLOS 1913) beanstandet DOBELL diese Angabe, da ja der Verlust der Giftfestigkeit erst 2 Wochen nach der Conjugation festgestellt wäre. Für den Kenner der Verhältnisse bei den Paramäcien ist dieser Einwand natürlich nicht stichhaltig. In den ersten Tagen nach einer Conjugation sind die Exconjugantenzuchten fast immer hinfälliger. Die Feststellung einer geringen Resistenz in dieser Zeit (die oft genug von mir beobachtet werden konnte) würde also noch nicht besagen, daß die erzielte Festigung wirklich zurückgebildet ist. Nur wenn die gesteigerte Widerstandsfähigkeit auch 2 Wochen nach vollendeter Conjugation (und später) fehlt, darf man von einem vollständigen Schwinden der Festigung sprechen.

und bei der späteren Neuaufnahme der Arbeit keine derartig augenfällig sich an die arsenige Säure anpassenden Rassen von *Paramaecium* gefunden wurden (auch bei meinen in München begonnenen Experimenten konnten ja nur bei vier Stämmen merkliche Festigungen erzielt werden).

Die bei den Arsenversuchen gewonnenen Ergebnisse erlauben uns aber doch schon, das Wesen derartiger Festigungen klarzustellen: es handelt sich um Umstimmungen der Reaktionsnorm, die auch nach Fortfall der auslösenden abgeänderten Außenbedingungen lange Zeit, unter Umständen hunderte von Teilungsschritten („Generationsfolgen“ wie häufig, wenn auch unberechtigterweise, gesagt wird) erhalten bleiben, somit nicht um gewöhnliche Modifikationen, wie wir sie z. B. bei unseren zuvor beschriebenen Gewöhnungsversuchen häufig antrafen. Andererseits konnten wir nachweisen, daß sämtliche Umstimmungen im Laufe des vegetativen Lebens (ev. unter Mitwirkung von parthenogenetischen Prozessen) schließlich doch zurückgebildet werden und daß sie vor allem nach einer Conjugation sofort und mit einem Schlage restlos zum Schwinden kommen. Es kann sich somit bei ihnen nicht um Änderungen der „Erbanlagen“, nicht um genotypische Veränderungen, um Mutationen, handeln, sondern nur um Umstimmungen, die den Infusorien nur äußerlich aufgezwungen waren, die deren Erbanlagen, deren potentielle Fähigkeiten überhaupt nicht veränderten, sie zwar einige Zeit nicht zur Geltung kommen ließen, aber schließlich doch von ihnen überwunden wurden.

Da die von uns beobachteten Erscheinungen somit nicht im strengen Sinne als erbliche bezeichnet werden dürfen, prinzipiell also doch Modifikationen darstellen, aber eben Modifikationen besonderer Art, von besonders langer Erhaltungsdauer, so habe ich für sie den besonderen Namen „**Dauermodifikationen**“ gewählt (JOLLOS 1913).

Dauermodifikationen konnten nun nicht nur unter der Einwirkung von arseniger Säure beobachtet werden, sondern analoge Veränderungen traten auch bei langdauernden Einwirkungen veränderter Außentemperaturen sowie von Calciumverbindungen, ferner unter dem Einflusse von spezifischen Seren bei Klonen unserer Paramäcien auf, Dauermodifikationen, an denen zum Teil auch das Wesen dieser Umstimmungserscheinungen etwas weiter analysiert werden konnte.

## 2. Versuche über Serumfestigung von Paramäcien.

Bei den in erster Linie von EHRlich und seinen Schülern untersuchten experimentell erzielten Änderungen im Verhalten von Trypanosomen und anderen pathogenen Microorganismen spielte neben der Giffestigung auch die sogenannte Serumfestigung, die Steigerung der Widerstandsfähigkeit gegenüber spezifischen Antiseren, eine besondere Rolle. Es lag daher nahe, auch in dieser Richtung einige Versuche mit unseren Paramäcien anzustellen:

Reiche Kulturen des Stammes h von *Paramaecium aurelia* in Liebig's Fleischextrakt-Bouillon wurden durch eine 5proz. Chlornatriumlösung abgetötet, zentrifugiert, die Infusorienleiber mehrmals ausgewaschen und alsdann Kaninchen teils intravenös (in die Ohr- randvene), teils intraperitoneal, eingespritzt. Durch wiederholte Einführung steigender Mengen von abgetöteten Paramäcien konnte ein Serum gewonnen werden, das noch bei beträchtlicher Verdünnung Kulturen des Stammes h innerhalb von wenigen Stunden bei 31° abtötete. Während das Serum unbehandelter Kaninchen (wie auch der gleichen Tiere vor Einspritzung der abgetöteten Paramäcien) in einer Verdünnung von 1:20 keinerlei schädigende Wirkungen auf Stamm h ausübte, tötete es nach der geschilderten Vorbehandlung je nach ihrer Dauer und Intensität noch in Verdünnungen von 1:100 bis 1:250, bei einem mit besonders großen Mengen und besonders häufig gespritzten Kaninchen sogar noch in einer Verdünnung von 1:500 die Kulturen von h restlos ab.

Es mag dabei noch erwähnt werden, daß ein zum Vergleich herangezogener Stamm von *Paramaecium caudatum* durch das zuletzt genannte Serum noch bei einer Verdünnung von 1:200 zum größten Teil vernichtet wurde. Auch bei den Infusorien lassen sich also auf serologischem Wege verschiedene Arten differenzieren, wie dies inzwischen auch für freilebende Amöben von SCHUCKMANN mitgeteilt worden ist.

Unter dem Einflusse des spezifischen Serums wird zunächst die Bewegung gehemmt, die Paramäcien kriechen nur langsam und schwankend, hauptsächlich am Boden des Kulturgefäßes. Weiterhin verlieren sie ihre charakteristische Gestalt, kugeln sich ab oder nehmen unregelmäßige Formen an, bis sie sich schließlich unter trüber Verfärbung und Vakuolisierung des Plasmas stark aufblähen und sterben. Die abtötende Wirkung der frisch gewonnenen spezifischen Sera war bei 31°, noch besser bei 37° (eine Temperatur,



die Stamm h zwei bis drei Tage ganz gut verträgt) innerhalb weniger Stunden, längstens nach einem Tage klar erkennbar. Doch fanden sich besonders bei den stärkeren Verdünnungen gelegentlich einzelne Individuen, die länger am Leben blieben und die in Bouillon oder Normalserum in einer Verdünnung von 1:100 weitergezogen, bei erneuter Prüfung eine erhöhte Resistenz gegenüber den spezifischen Antiparamäcienseren aufwiesen. Durch mehrfache Wiederholung des gleichen Verfahrens, in dem man die widerstandsfähigeren Paramäcien der Wirkung steigender Konzentrationen des spezifischen Serums aussetzte und stets die am längsten am Leben bleibenden Individuen weiterzüchtete, konnten schließlich beträchtliche Grade der Serumfestigung erzielt werden. So konnte ich wiederholt Kulturen soweit festigen, daß sie der Wirkung eines nur 1:40 verdünnten spezifischen Serums dauernd (auch bei dauernder Ergänzung des Serums) stand hielten, dem unvorbehandelte Paramäcien des gleichen Klones h noch in Verdünnungen von 1:200 rasch erlagen. Und zweimal gelang es, hochgradig gefestigte Kulturen zu gewinnen, die noch durch eine Verdünnung von 1:25 des erwähnten stärksten, noch in einer Verdünnung von 1:500 den normalen Stamm h abtötenden Serums nicht merklich geschädigt wurden.

Die eine dieser gefestigten Kulturen wurde sogar unmittelbar von einem einzigen bei der ersten Berührung mit dem starken Serum in einer Verdünnung von 1:100 allein nach 24 Stunden noch am Leben gebliebenen *Paramaecium* gewonnen.

Wir haben es hier also mit Serumfestigungen zu tun, die sehr wohl mit den entsprechenden Beobachtungen an Trypanosomenstämmen von EHRLICH u. a., andererseits aber auch mit unseren giftfesten Paramäcienklonen verglichen werden können. Denn das weitere Verhalten dieser serumfesten Kulturen stimmt durchaus mit dem unserer zuvor beschriebenen arsengefestigten Dauermodifikationen überein: Sämtliche Festigungen gingen schon im Lauf von wenigen Wochen, im Höchsthalle nach zwei Monaten bei Weiterzucht in der normalen Liebig-Fleischextraktbouillon wieder vollständig verloren. Und in zwei Fällen, bei einem noch gegen 1:30 eines sonst schon in Verdünnungen von 1:200 tödlich wirkenden Serums gefestigten Zweige von h sowie bei der zuvor erwähnten mit einem Schläge gegen eine Verdünnung von 1:25 meines stärksten Serums widerstandsfähig gewordenen Kultur, war die erworbene Serumfestigkeit nach experimenteller Auslösung einer Parthenogenesis so gleich völlig geschwunden; die betreffenden nach der Parthenogenesis weiter geführten Kulturen unterschieden sich in ihrem Verhalten

gegenüber den spezifischen Antiparamäcienseren in keiner Weise von gänzlich unbehandelten Individuen des gleichen Klones.

Danach scheinen diese Serumfestigungen schon in der Parthenogenesis eine Schranke zu finden, ein Umstand, der ihre relativ kurze Erhaltungsdauer und auch die Grenzen, innerhalb deren sie schwankt, ohne weiteres verständlich macht.

Auch bei den Serumfestigungen haben wir es somit mit typischen Dauermodifikationen zu tun, mit Dauermodifikationen die wohl am leichtesten und sichersten von allen von mir bisher beobachteten zu erzielen sind, aber offenbar auch am leichtesten und raschesten wieder zurückgebildet werden. Ob sich durch länger dauernde und intensivere Behandlung in dieser Richtung Steigerungen erzielen lassen, muß dahingestellt bleiben, da ich diese meine Versuche bei der gegenwärtigen Schwierigkeit und Kostspieligkeit des Arbeitens mit einer größeren Anzahl von Kaninchen vorläufig einstellen mußte.

### 3. Versuche mit Calciumverbindungen.

Die Beobachtungen an den unter der Einwirkung eines spezifischen Serums entstandenen Umstimmungen hatten uns zwar weitere Beispiele für das Zustandekommen und die große Bedeutung von Dauermodifikationen im Leben der Infusorien kennen gelehrt, dabei aber keine weiteren Aufklärungen über das Wesen und die Bedingungen des Auftretens und Schwindens dieser Kategorie von Abänderungen gebracht. Ein etwas tieferes Eindringen in diese Erscheinungen gestatteten dagegen ausgedehnte Beobachtungen über den Einfluß von Calciumverbindungen auf Klone von Paramäcien und zwar diesmal vor allem von *Paramecium aurelia*.<sup>1)</sup>

Bei Untersuchungen über die Einwirkung verschiedener Ionen auf Wachstum und Teilung der Paramäcien, Untersuchungen, die in einem späteren Teile der „Experimentellen Protistenstudien“ genauer geschildert werden sollen, konnte festgestellt werden, daß durch Li- und vor allem K-Ionen sehr häufig eine merkliche Steigerung der Teilungsintensität hervorgerufen wird, während Ca-Verbindungen dagegen ihre Herabsetzung bedingen. Als Beispiel für diese Verhältnisse sei in Tabelle 8 nebeneinander die Teilungsfrequenz für den Stamm h sowohl unter den Bedingungen der normalen

<sup>1)</sup> Die Ergebnisse dieses Teiles meiner Untersuchungen sind bereits in einer besonderen Abhandlung (JOLLOS, Experimentelle Vererbungsstudien an Infusorien, Ztschr. f. indukt. Abstammungs- u. Vererbungsl. Bd. 24 1920) veröffentlicht, aus der ich einen großen Teil der nachfolgenden Ausführungen fast wörtlich übernehme.

Tabelle 8.

Zahl der aus einem isolierten Paramaecium hervorgegangenen Individuen in	am																
	4.	5.	6.	7.	8.	9.	10.	11.	12.	13.	14.	15.	16.	März 1916			
Liebig's Fleischextrakt 0,025 : 100	4	4	4	2	4	4	2	2	4	2	4	4	2	4	2	4	2
Calciumnitrat $\frac{1}{200}$ n	2	2	2	1	2	1	2	2	2	2	1	2	2	2	2	2	2
Kaliumchlorid $\frac{1}{200}$ n	8	4	4	4	2	4	8	8	4	4	4	4	8	4	4	4	8

Kultur in Liebig's Fleischextrakt, wie auch in Kalziumnitrat- und Kaliumchloridlösung wiedergegeben. Die Beobachtungen sind im wesentlichen an Objektträgerkulturen angestellt, wie wir sie in der Einleitung beschrieben haben. Die aus einem einzelnen *Paramaecium* nach 24 Stunden jeweilig hervorgegangenen Tochterindividuen sind in der Tabelle unter jedem Tage angegeben; sie wurden stets von neuem einzeln auf verschiedene hohlgeschliffene Objektträger verteilt. Zunächst brachte ich aus einer größeren Kultur, die kurz zuvor eine Parthenogenesis-Periode durchgemacht hatte, ein einzelnes Individuum auf einen solchen Objektträger mit Liebig-Fleischextraktbouillon; die daraus nach 24 Stunden hervorgegangenen Tochterindividuen, im Falle unserer Tabelle also vier an der Zahl, wurden alsdann auf kurze Zeit in eine kleine Zimmermann-Schale mit abgekochtem, destilliertem Wasser übertragen und dann von dort auf je einen Objektträger mit sterilen Lösungen von Bouillon, von Calciumnitrat und von Kaliumchlorid gebracht, die ich sämtlich mit einer Öse von einer mehrfach unter Zentrifugieren ausgewaschenen Aufschwemmung von *Bacterium proteus* versetzte. Streng chemisch betrachtet sind die Versuche somit nicht rein, da ja sowohl bei der Überführung der Paramäcien wie auch mit den Nährbakterien ihrer Art und Konzentration nach nicht festgestellte Ionen in den Versuch eingeführt werden. Leider läßt sich aber, wie wir in der Einleitung ausführten, der bakterielle Faktor für unsere Paramäcienarten nicht vollständig ausschalten, dürfte aber bei der hier gewählten Versuchsanordnung auf ein Minimum reduziert sein.

Wie unsere Tabelle 8 zeigt, ist der Unterschied der Teilungsintensität in den drei verschiedenen Lösungen ein augenfälliger, doch muß betont werden, daß leider keineswegs immer so klare Verhältnisse vorliegen. Aus noch nicht näher festgestellten Gründen bleibt in vielen Fällen die Teilungsrate in der Kalium- und Calciumlösung gegenüber dem Verhalten in der Bouillon unverändert; ja

man kann sogar gelegentlich auch das entgegengesetzte Resultat, eine Verlangsamung in Chlorkalium, eine Beschleunigung der Teilungsrates in Chlorcalciumlösung gleicher Konzentration beobachten.

Auf die Unsicherheit dieser Reaktion hat auch SPEK unlängst hingewiesen, der analoge Beobachtungen über Ionen-Wirkung auf die Teilung von Paramäcien machen konnte (1919/20). Ja die Unsicherheit ist sogar noch größer, als sie bei flüchtiger Musterung der SPEK'schen Tabellen erscheinen mag, besteht doch in den meisten der von ihm angeführten Fälle, in denen er Beschleunigungen der Teilungsrates unter der Einwirkung von Li-Ionen nachgewiesen zu haben glaubt, keineswegs eine derartige Steigerung, sondern nur eine Herabsetzung der Teilungsrates bei den von ihm offenbar unter ungünstigen Bedingungen (da in Massenanhäufungen) gehaltenen unbehandelten Kontrollkulturen. Auf diese Verhältnisse wird, wie gesagt, an anderer Stelle näher eingegangen werden, während uns hier nur das weitere Verhalten unserer Klone unter und vor allem nach Einwirkung von Calciumverbindungen beschäftigen soll.

Versetzt man die Paramäcien aus der Ca-Lösung wieder in normale Bouillon, so finden wir meist gleich oder doch nach wenigen Tagen wieder die für den betreffenden Stamm unter diesen Bedingungen normale Teilungsfrequenz. Anders kann dies aber werden, wenn man die Paramäcien sehr lange in der Calciumlösung beläßt. Allerdings sind die Ergebnisse hierbei noch inkonstanter als bei der primären Einwirkung der Ca-Ionen überhaupt. So kann es vorkommen, daß nach Zurückversetzung in die gewöhnliche Nährlösung zunächst eine Steigerung der Teilungsrates über die Norm erfolgt. (Ein Verhalten, das seine Analogie in den von uns noch zu schildernden Veränderungen der Teilungsrates bei Temperaturwechsel findet.) In einer Reihe von Versuchen, bei denen die Paramäcien in einer  $\frac{1}{300}$  bis  $\frac{1}{100}$  n-Lösung von Calciumnitrat oder Calciumchlorid monatelang in den auch sonst verwandten  $\frac{1}{4}$  Liter-Gläsern gehalten worden waren, zeigte es sich aber, daß die Teilungsrates auch nach Zurückversetzung in die gewöhnliche Kulturlösung verlangsamt blieb. Neben Kulturen, bei denen solche „Nachwirkungen“ nur wenige Tage oder Wochen nachweisbar waren, gab es andere, deren Teilungsfrequenz sich eine Reihe von Monaten abgeändert erhielt. So besaß die Linie h von *Paramaecium aurelia*, die ich vom 4. Januar bis zum 6. April 1917 in einer Calciumnitratlösung gehalten hatte und die von da an als Hca bezeichnet wurde, nach Zurückversetzung in Bouillon die aus Tabelle 9 zu ersiehende herab-

Tabelle 9.

Datum	7.	8.	9.	10.	11.	12.	13.	14.	15.	16.	17.	18.	19.	20.	21.
	April 1917														
Vermehrungsziffer von Stamm h (Ca) (nach 3 Monaten Ca-Einwirkung)	2	2	1	2	2	2	2	1	2	1	2	2	2	1	2
Von Stamm h (unbeeinflusst)	4	4	2	4	2	4	2	4	4	2	4	2	4	4	2

} in „normaler“  
Bouillon-  
lösung

gesetzte Teilungsrate, während ein parallel geführter Zweig des gleichen Stammes, der der Ca-Wirkung nicht ausgesetzt gewesen war, unter den gleichen Bedingungen, wie ein Blick auf Tabelle 9 lehrt, faßt die doppelte Vermehrungsziffer aufwies. Dieser Unterschied blieb unter den üblichen Zuchtbedingungen auch nach einem, ja selbst nach zwei Monaten bestehen, wie unsere Figur 2 zeigt.

Wir haben also auch hier eine bei Zurückversetzung in normale Kulturlösungen durch viele Teilungen hindurch erhalten bleibende künstlich erzeugte Veränderung des *Paramaecium*-Stammes h vor uns, und es fragt sich nun, ob es sich auch hierbei um eine Dauermodifikation wie bei den Arsenfestigungen handelt. Die Entscheidung mußte auch hier wieder die weitere Beobachtung und vor allem das Verhalten nach einer Conjugation bringen. Bei diesen Versuchen bestand aber noch eine weitere Prüfungsmöglichkeit, die mir bei meinen älteren Arsenversuchen noch nicht zur Verfügung gestanden hatte: das Verhalten nach Parthenogenese. Hatten doch inzwischen die schönen Arbeiten von WOODRUFF und ERDMANN gezeigt, daß es sich bei der Parthenogenese um ein im Lebenslauf der Paramäcien relativ häufig feststellbares Geschehen handelt, während ich selbst den Nachweis der leichten experimentellen Auslösbarkeit der Parthenogenese führen konnte (JOLLOS 1916). Schon bei dem stufenweisen Abklingen der Arsenfestigung, wie wir es besonders in Protokoll 7 jener Versuche (S. 65—74) verfolgen konnten, ist der Verdacht einer Einwirkung von eingeschalteten Parthenogeneseperioden recht naheliegend. Bei den unter der Einwirkung von Calciumverbindungen entstandenen Umstimmungen der Reaktionsnorm konnte ich aber den Zusammenhang zwischen solchen Rückbildungen und dem Auftreten von Parthenogenese planmäßig experimentell prüfen.

Die weitere Beobachtung des abgeänderten Stammes (H ca) bei vegetativer Vermehrung ergab, daß die Verlangsamung der Teilungsrate, wie im April und Mai, auch noch im Juni 1917 ziemlich unverändert erhalten blieb. Erst Ende Juni zeigt sich eine An-

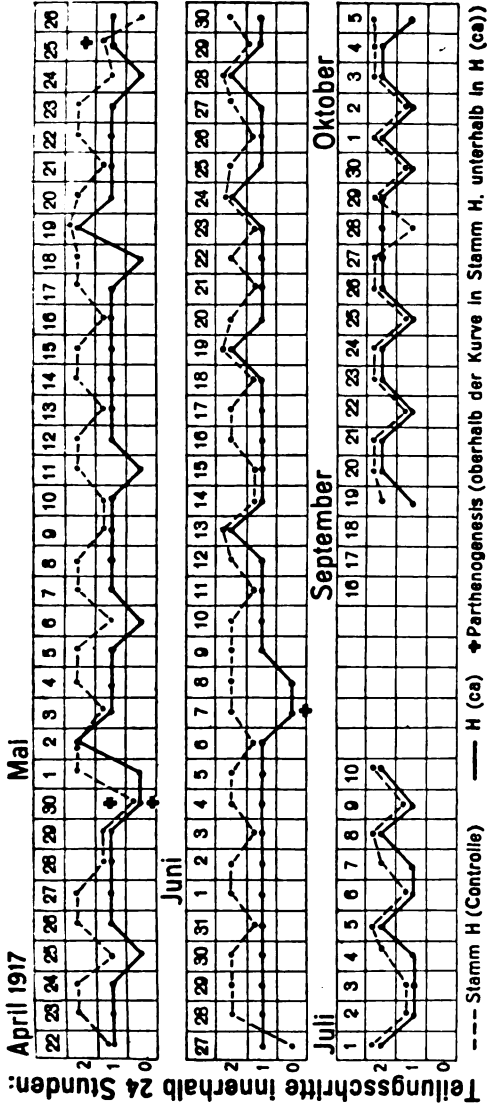


Tabelle 10.

	Mai 1917										Juni 1917													
H (Ca)	14.	15.	16.	17.	18.	19.	20.	21.	22.	23.	24.	25.	26.	27.	28.	29.	30.	31.	1.	2.	3.	4.	5.	
nach Conjugation	4	4	2	4	4	2	4	4	4	4	2	2	2	4	4	2	4	4	4	2	4	4	4	2+
Kontrolle H	4	4	2	4	4	4	4	2	4	4	2	2	1+	1	4	4	4	4	2	4	4	2	4	4

Tabelle 11.

	April 1917										Mai 1917																											
Kontrolle H	15.	16.	17.	18.	19.	20.	21.	22.	23.	24.	25.	26.	27.	28.	29.	30.	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.	10.	11.	12.	13.	14.	15.	16.	17.	18.				
H (Ca)	4	2	4	2	4	4	2	4	4	2	2	4	4	2	2	1+	4	4	2	4	4	2	4	4	2	4	4	2	4	4	2	4	4	2	4	4		
Abzweigung von H (Ca)	2	→	1	2	2	2	1	2	2	2	2	1	2	2	2	2+	1	1	4	2	2	2	1	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	1		
H (Ca)	1	2	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

⊕ = künstlich erzielte Parthenogenese.

näherung an das normale Verhalten, das Anfang Juli fast und Mitte September (in der Zwischenzeit wurden keine genauen Prüfungen vorgenommen) völlig wieder erreicht war (vgl. Fig. 2).

In einer Abzweigung dieser Zählkulturen gelang es Ende Mai Conjugation zu erzielen. Zehn Tage danach wurden von Nachkommen der Exconjuganten in üblicher Weise wieder Zählkulturen angelegt; es fand sich nunmehr die auf Tabelle 10 wiedergegebene Teilungsrate, also, wie der Vergleich zeigt, die Norm für unsere Linie.

Das langsame Schwinden der Umstimmung der Teilungsfrequenz bei vegetativer Vermehrung und der sofortige Rückschlag zum Verhalten des Ausgangsstammes nach einer Conjugation lehrt uns ohne weiteres, daß auch diese bei der Einwirkung von Calciumverbindungen entstandene Abänderung eine typische Dauermodifikation darstellt. Wie aber verhielt sich eine derartige Dauermodifikation beim Eintritt einer Parthenogenese?

Zur Prüfung des Einflusses der Parthenogenese wurden von dem veränderten Hauptstamm Kulturen abgezweigt und in ihnen wiederholt Parthenogenese ausgelöst (wie ich es 1916 eingehender beschrieben habe). Auf Tabelle 11 sind die Zeiten dieses Prozesses durch ein + angezeigt, ebenso auf den vorangegangenen und folgenden Tabellen, da ja bei der langen Dauer der Versuchsreihen auch unter den gewöhnlichen Bedingungen der Zählkulturen wiederholt Parthenogenesen zu beobachten waren. Wir ersehen aus den Aufzeichnungen, daß die Parthenogenese wider Erwarten zunächst so gut wie gar keinen Einfluß ausübt. Die Teilungsrate erscheint nach der ersten und auch nach der zweiten Parthenogenese unverändert herabgesetzt. Auch nach der dritten bleibt sie noch etwas unter der Norm, um erst nach der vierten wieder das für den unbeeinflussten Stamm normale Verhalten aufzuweisen, das, wie wir sahen (Tabelle 10), schon durch eine einzige Conjugation erzielt wurde. In einem anderen Fall, bei Stamm IV von *Paramaecium caudatum*, bedurfte es dreier Parthenogenesen, in einem dritten aus dem Jahre 1916 sogar fünf, bis der gleiche Effekt erzielt war, wie durch eine einzige Conjugation, nämlich die Rückkehr zur normalen Teilungsfrequenz. Immerhin bringt aber auch die Parthenogenese gegenüber der einfachen vegetativen Vermehrung eine erhebliche Beschleunigung der Rückbildungsvorgänge mit sich (vgl. Tabelle 11 u. 14). Man könnte daher, da ja bei langer Versuchsdauer, vor allem unter den Bedingungen der Zählkulturen, das Auftreten von Parthenogenese kaum vermeidbar ist (vgl. JOLLOS 1916), die Ansicht vertreten, daß auch bei den normalen „vegetativen“ Zuchten des abgeänderten Klones, die schließ-

lich einsetzenden Rückbildungsvorgänge allein durch diese Prozesse bedingt werden. Gegen eine solche extreme Auffassung spricht aber die nicht selten festzustellende Rückbildung weniger tief wurzelnder Veränderungen schon während rein vegetativer Vermehrung vor Eintritt der ersten Parthenogenese; ferner auch bis zu einem gewissen Grade das aus unseren Tabellen (besonders Tabelle 14) zu ersiehende Verhalten der Zählkulturen unseres veränderten Stammes h, bei dem häufig die Rückkehr zur Norm gerade während der vegetativen Vermehrungsperiode und nicht im unmittelbaren Anschluß an eine Parthenogenese erfolgte. Doch dürften bei den beschleunigten Rückbildungen unter dem Einfluß von häufigem und schroffem Wechsel der Außenbedingungen, wie wir sie bei unseren arsengefestigten Paramäcien näher beschrieben haben, tatsächlich die durch solche Veränderungen der Außenfaktoren meist ausgelösten parthenogenetischen Vorgänge eine wesentliche Rolle spielen. — Wenn wir also von dem nicht erwarteten erheblichen Intensitätsunterschiede der Wirkung von Conjugation und Parthenogenese absehen, so entspricht das Verhalten der geschilderten Umstimmung der Teilungsrate ganz dem der beobachteten Festigungen gegenüber arseniger Säure. Jedenfalls fügen sich auch diese durch Calciumnitratlösung bedingten Veränderungen der Paramäcien ganz in den Rahmen der zuvor beschriebenen Dauermodifikationen.

Ein neues Moment ergab sich aber bei Weiterführung der Versuche. Ein Teil der am 4. Januar 1917 in Calciumnitrat gebrachten Paramäcien (wir bezeichneten ihn als H Ca 1) wurde in dieser Lösung bis zum 25. November 1917 belassen. Nach der Zurückversetzung in normale Kulturbedingungen zeigte sich wie in den zuvor geschilderten Fällen eine starke Herabsetzung der Teilungsfrequenz (vgl. Tab. 14). Diese Herabsetzung blieb, wie wir sehen, zunächst während des Dezember 1917, Januar und Februar 1918 bei vegetativer Vermehrung unverändert bestehen. Sie erhielt sich auch nach der ersten, zweiten und dritten Parthenogenese und endlich: sie wurde auch durch eine Conjugation nicht beseitigt. Conjugation wurde im Januar 1918 in einer Abzweigung erzielt. Wir finden danach folgende Vermehrungsziffer (Tabelle 12), somit keinerlei Rückschlag zum normalen Verhalten des Stammes h.

Was sagt uns dies Ergebnis? Haben wir es bei diesen fast ein Jahr der Calciumwirkung ausgesetzt gewesenen Paramäcien nicht mit Dauermodifikationen, sondern mit wirklichen genotypischen Veränderungen, mit Mutationen zu tun? Ist etwa ein Übergang



von Dauermodifikation zu Mutation erfolgt? Nur die weitere Beobachtung konnte darüber Aufklärung bringen.

Zunächst ist festzustellen, daß dies Erhaltenbleiben der veränderten Teilungsrate auch nach einer Conjugation nicht auf den eben beschriebenen Fall beschränkt war. Nicht nur verhielten sich andere Abzweigungen der von uns geschilderten abgeänderten Kultur  $H Ca_1$ , bei denen Mitte Februar bzw. Anfang März Conjugationen auftraten, ebenso (vgl. Tabelle 14), sondern auch bei einer anderen Versuchsserie konnte eine entsprechende Beobachtung schon 1916 gemacht werden (Tab. 13). Es kann somit keinem Zweifel unterliegen, daß im Gegensatz zu den zuvor beschriebenen

Dauermodifikationen in all diesen Fällen die künstlich erzeugten Veränderungen der Paramäcien auch durch eine Conjugation nicht zum Schwinden gebracht werden — und dennoch handelt es sich auch hier um keine Veränderung der genotypen Grundlage, um keine Mutation.

Die weitere Beobachtung der genannten Kulturen ergab nämlich, daß auch hier im

Kontrolle H Hx (v. 4. Okt. 1915 bis 10. April 1916 in $CaCl_2$ ) Abzweigung von Hx mit Conjugation	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	1	2	3	4	5	6	
	4	2	4	2	4	2	4	4	2	4	4	4	2	4	4	2	4	4	2	2	4	4	2	4	4	2	2	1	1	1	1	2	2	2	2
	2	2	2	1	2	1	2	2	2	2	1	2	1	2	2	2	2	1	2	2	2	2	2	1	1	1	2	2	2	2	2	2	2	2	

Tabelle 13.

Kontrolle H H ( $Ca_1$ ) H ( $Ca_1$ ) nach Conjugation am 20. Januar	Januar 31.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	
		4	2	2	4	2	4	4	4	4	2	4	2	4	4	2	4	4	2	2	4	4	2
		2	1	2	1	2	1	2	2	2	2	2	1	2	2	2	1	2	2	2	2	2	2
		2	2	2	1	2	1	2	2	1	2	2	2	2	1	2	1	2	2	2	2	2	2

Tabelle 12.

Laufe der vegetativen Vermehrung <sup>1)</sup> die Rückkehr zur Norm erfolgt. Allerdings erst nach langer Zeit: so bei der von Januar bis November 1917 in der Calciumnitratlösung belassenen, als H Ca<sub>1</sub> bezeichneten Kultur des Stammes h erst Anfang Juli 1918, bei einer von Oktober 1915 bis 10. April 1916 in Calciumchlorid gehaltenen Linie erst im Oktober 1916, endlich bei einem von Januar 1917 bis Juni 1918 in Kalziumnitrat geführten Teile des Stammes h erst im Dezember 1918.

Bei einer Abzweigung von unserer Kultur H Ca<sub>1</sub>, d. h. des von Januar bis November 1917 der Calciumwirkung ausgesetzt gewesenen Zweiges von Stamm h, gelang es ferner Anfang und Mitte März, also rasch hintereinander, zwei Conjugationen auszulösen, mit dem Erfolge, daß alsdann unmittelbar nach der zweiten Conjugation, also im März, die Rückkehr zur Norm eingetreten war, während bei vegetativer Vermehrung erst Anfang Juli das gleiche Ergebnis zustande kam.

Und ebenso konnte in einer anderen Abzweigung durch Häufung von sieben Parthenogenesen die Rückbildung gleichfalls schon im März erzwungen werden. Ganz wie bei den arsenfesten Dauermodifikationen wurde endlich auch durch wiederholten Wechsel der Kulturbedingungen — zeitweise Kultur in KCl sowie RINGER'Scher Lösung in Verdünnung 1:20, Kultur bei 30° — auch ohne eine Häufung von Parthenogenesen eine erhebliche Beschleunigung der Rückbildung bewirkt.

Auf Tabelle 14 und Fig. 3 ist dies verschiedene Verhalten bei vegetativer Vermehrung, abgeänderten Kulturbedingungen, Parthenogenesis und Conjugation für den Hauptversuch vollständig zusammengestellt.

All diese Beobachtungen zeigen uns somit zur Genüge, daß es sich auch bei den der ersten Conjugation trotzens Veränderungen nicht um eine Beeinflussung der Gene, nicht um eine Mutation, sondern ebenso wie bei den Festigungen gegenüber arseniger Säure und spezifischen Seren sowie bei den von uns zuerst geschilderten Umbildungen unter der Einwirkung von Calciumverbindungen nur um Dauermodifikationen handelt.

Nach den Versuchen mit den arsenfesten Paramäcien und ebenso nach unseren ersten Beobachtungen an den durch Calciumwirkung erzielten Umstimmungen konnte es so erscheinen, als wenn alle derartigen Veränderungen, alle Dauermodifikationen, eine feste Schranke

<sup>1)</sup> Von den einzelnen dabei „normaler“ Weise auftretenden Parthenogenesen sehen wir ab (vgl. S. 84 u. 85).

Tabelle 14.

	Dezember 1917																																					
	28.	29.	30.	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.	10.	11.	12.	13.	14.	15.	16.	17.	18.	19.	20.	21.	22.	23.	24.	25.	26.	27.	28.	29.	30.	31.				
Kontrolle H	4	4	2	4	2	4	4	2	4	4	2	4	4	2	4	2	1	2	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	2	4	2		
H (Ca <sub>1</sub> )	2	2	1	2	1	2	1	2	2	2	1	2	2	1	2	2	1	2	1	2	1	1	2	1	2	1	2	2	4	1	1	2	2	1	1	2	2	1

	Januar 1918												Febr. 1918																										
	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.	10.	11.	12.	13.	14.	15.	16.	17.	18.	19.	20.	21.	22.	23.	24.	25.	26.	27.	28.	29.	30.	31.	1.	2.	3.					
Fortsetzung	4	2	2	4	4	2	4	2	4	4	2	4	4	2	4	2	4	4	2	2	2	1	2	4	4	4	2	4	4	2	4	4	2	4	4	2	2	4	
H (Ca <sub>1</sub> )	2	2	2	1	2	2	1	2	1	2	2	1	2	2	2	2	2	1	2	2	1	2	2	1	1	1	1	2	2	2	2	2	2	2	2	2	1	2	1
H (Ca <sub>1</sub> ) mit Par- thenogenese																																							
H (Ca <sub>1</sub> ) mit Conj.																																							

	Februar 1918						März 1918																																	
	4.	5.	6.	7.	8.	9.	10.	11.	12.	13.	14.	15.	16.	17.	18.	19.	20.	21.	22.	23.	24.	25.	26.	27.	28.	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.						
Fortsetzung	4	2	4	4	4	2	4	2	4	4	2	4	4	2	4	4	2	4	4	2	4	4	2	4	4	4	2	4	4	2	4	4	2	4	4	2	4	2	2	
H (Ca <sub>1</sub> )	2	1	2	2	2	2	2	1	2	2	1	2	2	2	2	2	2	1	2	1	2	1	1	1	2	1	2	1	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	
H (Ca <sub>1</sub> ) mit Par- thenogenese																																								
H (Ca <sub>1</sub> ) mit Conj.																																								

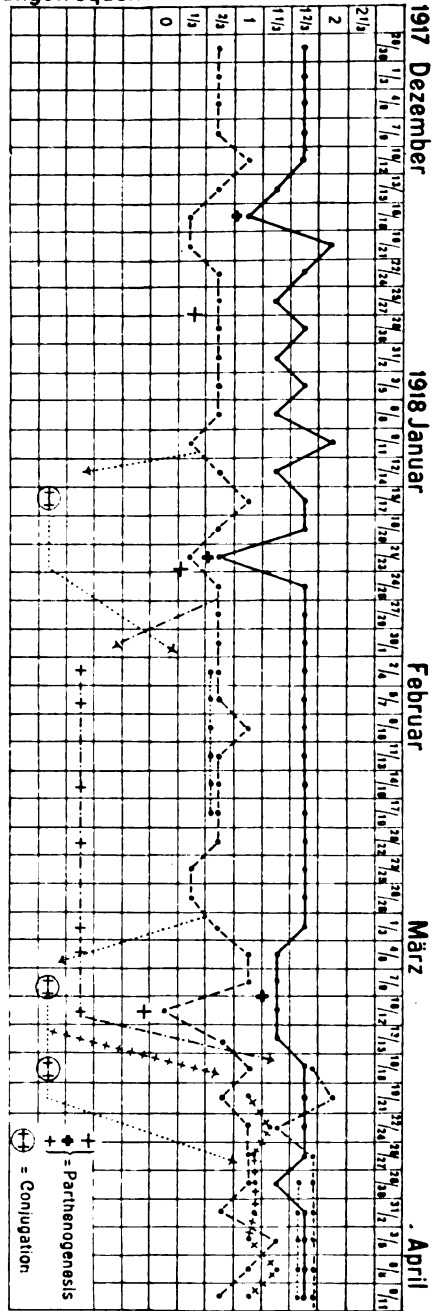
	März 1918										April 1918																							
Fortsetzung	10.	11.	12.	13.	14.	15.	16.	17.	18.	19.	20.	21.	22.	23.	24.	25.	26.	27.	28.	29.	30.	31.	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.	10.	11.	12.
H (Ca <sub>1</sub> )	2	+	8	2	4	2	4	4	2	4	4	2	4	4	2	4	2	4	2	2	4	2	4	2	4	2	4	2	4	4	4	4	2	4
H (Ca <sub>1</sub> ) mit Parthenogenese	1	1	1	+	2	2	1	2	2	2	2	1	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	1	2	2	2	2	2	2	2	2	2	1	2
H (Ca <sub>1</sub> ) mit Conj.	<div style="display: flex; justify-content: space-between;"> <span>2</span> <span>4</span> <span>4</span> <span>2</span> <span>4</span> <span>4</span> <span>2</span> <span>4</span> <span>4</span> <span>4</span> <span>2</span> <span>2</span> <span>4</span> <span>4</span> <span>2</span> <span>2</span> <span>4</span> <span>4</span> <span>2</span> <span>4</span> <span>2</span> <span>4</span> <span>2</span> <span>4</span> <span>2</span> <span>4</span> <span>2</span> <span>4</span> <span>2</span> <span>4</span> <span>2</span> <span>4</span> <span>2</span> <span>4</span> <span>2</span> <span>4</span> <span>2</span> <span>4</span> </div>																																	

Vom 13. April bis 20. Mai werden die Stämme als Massenkulturen weitergeführt, am 20. Mai nach Auslösung von Parthenogenese in H wie H (Ca<sub>1</sub>) wieder Objektträger-Zählkulturen.

	Mai 1918										Juni 1918																								
H (Ca <sub>1</sub> )	21.	22.	23.	24.	25.	26.	27.	28.	29.	30.	31.	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.	10.	11.	12.	13.	14.	15.	16.	17.	18.	19.	20.	21.			
H (Ca <sub>1</sub> )	4	4	4	2	4	2	4	4	4	4	2	4	4	2	4	4	2	4	2	2	2	2	4	4	2	4	4	2	4	4	2	4	2	4	
H (Ca <sub>1</sub> ) mit Milieuwechsel	2	2	2	2	4	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	1	2	4	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2

	Juni 1918										Juli 1918																													
Fortsetzung	22.	23.	24.	25.	26.	27.	28.	29.	30.	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.	10.	11.	12.	13.	14.	15.	16.	17.	18.	19.	20.	21.	22.	23.	24.	25.	26.	27.	28.	29.	30.	
H (Ca <sub>1</sub> )	4	4	2	4	4	2	4	4	4	4	2	2	4	2	4	4	2	4	2	4	2	4	4	2	4	4	2	4	4	2	4	4	2	4	4	2	4	2		
H (Ca <sub>1</sub> ) mit Milieuwechsel	2	4	2	2	4	2	2	2	4	2	4	2	4	2	4	2	4	2	4	2	4	2	4	2	4	2	4	2	4	2	4	2	4	2	4	2	4	2	4	2

Teilungsfrequenz innerhalb 24 Stunden.



Vom 13. April bis 20. Mai werden die Stämme als Massenkulturen weitergeführt, am 20. Mai nach Auslösung von Parthenogenese in H wie Hca<sub>1</sub> wieder Objektträger-Zählkulturen.

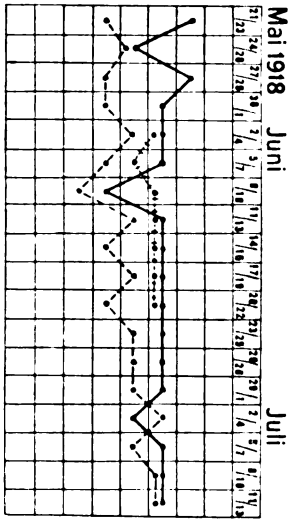


Fig. 3. Teilungsfrequenz des normalen und des durch langdauernde Calciumeinwirkung abgeänderten Klones h.

- = Hca<sub>1</sub>
- - - = Hca<sub>1</sub> mit Parthenogenese
- ..... = Hca<sub>1</sub> mit Conjugation
- · - · - = Hca<sub>1</sub> mit Milieuwechsel

an der Conjugation fänden, die als ein Jungbrunnen alles dem Körper der Protisten Aufgezwungene mit einem Schlage beseitigte. Die nunmehr vorliegenden Erfahrungen lehren, daß dem nicht so zu sein braucht: wohl zeigen auch sie, daß im Zusammenhange mit der Befruchtung tiefgreifende Umwandlungen im Stoffwechsel und inneren Bau der Infusorien stattfinden müssen, Umwandlungen, von denen uns unsere allein mit morphologischen Methoden arbeitenden Forschungen kaum eine schwache Vorstellung geben können — aber bei alledem handelt es sich zwar um die offenbar tiefstgreifenden Prozesse im Leben der Infusorien, aber im Hinblick auf die Dauermodifikationen doch nur um quantitative Unterschiede gegenüber den Vorgängen auch des vegetativen Lebens und bei der Parthenogenesis. Denn fassen wir alle unsere bisherigen Erfahrungen über die Rückbildung aufgezwungener Veränderungen zusammen, so finden wir:

Die meisten scheinbaren Umwandlungen der Reaktionsnorm der Infusorien sind durch keinerlei tiefergehende Veränderungen der lebenden Substanz bedingt — sie schwinden daher sogleich oder doch sehr bald nach Fortfall der einwirkenden äußeren Faktoren. Haben die modifizierenden äußeren Bedingungen intensiver einwirken können, so finden wir auch nach ihrer Beseitigung eine längere Nachwirkung. Zur Wiederherstellung der Reaktionsnorm genügen nicht mehr die während weniger Teilungen ablaufenden Umsätze, sondern es bedarf dazu entweder längerer Zeit (und damit also auch zahlreicher Teilungsschritte) oder aber, es müssen in kürzerer Zeit die Reaktionsvorgänge innerhalb des Infusors auf irgendeine Weise gesteigert werden. Dazu standen uns als Mittel zur Verfügung: Einmal, häufiger schroffer Wechsel der Temperatur und sonstigen Außenbedingungen, ein Verfahren, das sowohl für sich allein unmittelbar wirksam ist, weiterhin aber auch mittelbar durch die damit sehr oft bewirkte Auslösung unseres zweiten, stärkeren Hilfsmittels. Dieses zweite Mittel ist die Parthenogenesis, das dritte, stärkste endlich die Conjugation.

Die Unterschiede in dem Verhalten der durch Calciumverbindungen hervorgerufenen Dauermodifikationen bei vegetativer Vermehrung, Parthenogenesis und Conjugation erlauben uns aber, hier noch etwas weiter, als es uns bei den Arsenfestigungen möglich war, in das Wesen und die Bedingungen dieser Umstimmungen einzudringen. Erleichtert wird uns dies durch die besonderen bei den Infusorien vorliegenden Strukturverhältnisse und Vorgänge bei den geschlechtlichen Prozessen:

Wir unterscheiden bei einem *Paramäcium* summarisch 3 Bestand-

teile: 1. den Plasmaleib mit allen seinen äußeren und inneren Differenzierungen, 2. den Macronucleus, 3. den Micronucleus (resp. die Micronuclei).

Bei der vegetativen Vermehrung erfolgt eine einfache, nach unseren Kenntnissen äquale Teilung sowohl vom Macro- wie Micronucleus, wie auch des Plasmakörpers. Bei der Parthenogenesis wird, wie in der Einleitung ausgeführt wurde, der alte Macronucleus beseitigt und dann vom Micronucleus ein neuer Macronucleus gebildet. Der Micronucleus teilt sich dabei wiederholt mitotisch, macht aber offenbar keine Reduktionsteilung durch. Bei der Conjugation endlich wird einmal, wie bei der Parthenogenesis, der alte Macronucleus ausgeschaltet und ein neuer gebildet; darüber hinaus aber kommt es auch zur Reduktion des Micronucleus und seiner Neuentstehung aus verschmelzenden Micronucleushälften der beiden Conjuganten.

Fragen wir uns nun, ob die durch Calciumeinwirkung entstandenen Dauermodifikationen primär durch Veränderung von Protoplasma, Macronucleus oder Micronucleus bedingt sind, so ist festzustellen:

Am Macronucleus kann es nicht liegen, denn sowohl bei Parthenogenesis wie bei Conjugation wird er gänzlich ausgeschaltet und durch einen neuen ersetzt, ohne daß die Dauermodifikation, wie wir gesehen haben, geschwunden wäre.

Und ebenso kann unsere Dauermodifikation nicht auf einer Veränderung des Micronucleus beruhen. Mit einer solchen wäre zwar ihr Bestehenbleiben nach Parthenogenesis ohne weiteres vereinbar. Dagegen müßten wir erwarten, daß sie bei der Conjugation schwinden kann und andererseits bei vegetativer Vermehrung bestehen bleibt — also gerade das Gegenteil von dem tatsächlich beobachteten Verhalten.

Somit bleibt als einzig möglicher primärer Sitz der beobachteten Veränderungen das Protoplasma. Damit stimmt es durchaus überein, daß die Umwandlungen im Laufe rein vegetativer Vermehrung allmählich wieder abklingen, daß sie sowohl nach Parthenogenesis wie nach Conjugation bestehen bleiben können, aber durch beide genannten Prozesse beschleunigt zum Schwinden gebracht werden, wirken diese Vorgänge auf das Plasma doch eben nur indirekt, wenn auch höchst intensiv ein.

In unserem Falle erscheint es mir somit bewiesen, daß Umwandlungen, die sich viele Monate, durch Dutzende oder Hunderte von Teilungsschritten, durch

mehrere Parthenogenesen, ja selbst durch eine Conjugation hindurch erhalten können (also auch im strengsten vererbungswissenschaftlichen Sinne von einer Generation auf die andere übergehen) auf Veränderungen des Protoplasmas beruhen. Damit soll natürlich nicht gesagt werden, daß nicht auch Macronucleus und Micronucleus mitbeeinflusst werden. Halten wir doch eine derartig schroffe Lokalisationsanschauung bei den intimen wechselseitigen Beeinflussungen der einzelnen Bestandteile der Zelle nicht für gerechtfertigt. Aber worauf es uns ankommt, und was durch die mitgeteilten Befunde bewiesen wird, ist: das unveränderte Erhaltenbleiben einer künstlich erzeugten Umstimmung unserer Paramäcien nach Ausschaltung der umstimmenden Faktoren, nach Neubildung von Macronucleus wie Micronucleus, also unter Bedingungen, bei denen letzten Endes ausschließlich Veränderungen des Protoplasmas wirksam sein können.

Gegenüber den Feststellungen an den arsenfesten Paramäcien haben uns die Calciumversuche somit in zweierlei Hinsicht ein weiteres Eindringen in das Wesen der Dauermodifikationen ermöglicht: Sie haben uns gezeigt, daß Dauermodifikationen sich unter Umständen auch über eine Conjugation hinweg erhalten können und weiterhin, daß sie wenigstens in manchen Fällen auf Veränderungen des Plasmas zurückzuführen sind. In manchen Fällen — denn unsere Feststellungen besagen nun nicht etwa, daß alle Dauermodifikationen auf plasmatischen Veränderungen beruhen müssen. Schon in einer 1914 gegebenen Übersicht habe ich auf Beispiele hingewiesen, bei denen offenbare Dauermodifikationen gerade durch Veränderung von Bestandteilen des Kernes bzw. vom Kern aus gebildeter Strukturen bedingt sind, und eine besondere interessante Gruppe derartiger Umstimmungen werden wir sogleich auch bei unseren Paramäcien kennen lernen.

Zuvor sei aber noch auf einen für die Beurteilung der allgemeinen Variabilitätsverhältnisse bei Infusorien wichtigen Punkt hingewiesen: Unter langdauernder Einwirkung von Calciumionen haben wir soeben Umstimmungen eines Klonen kennen gelernt, die sich auch nach Fortfall des auslösenden Faktors unter normalen Zuchtbedingungen über ein halbes Jahr erhalten konnten. Diese Feststellung zwingt daher dazu, bei der Bewertung differenter aus dem Freien gewonnener Stämme von Paramäcien etwas vorsichtig zu sein. Wir haben eingangs erwähnt, daß im Laufe dieser Unter-



suchungen von verschiedenen Fundstellen eine größere Anzahl dauernd unterscheidbarer Rassen von Paramäcien isoliert werden konnte, und in gleicher Weise hatten schon JENNINGS und nachher manche anderen Untersucher zahlreiche verschiedene Rassen der gleichen Art beschrieben. Da nun aber die Laboratoriumsbeobachtungen bei den meisten dieser unterschiedenen Rassen sich nur über wenige Monate erstreckten, so ist nach den jetzt vorliegenden Erfahrungen der Einwand nicht von der Hand zu weisen, daß es sich bei manchen dieser Rassen, besonders wenn sie von verschiedenen Fundorten stammten, nur um lange erhalten bleibende Dauermodifikationen handeln kann. Diese Möglichkeit ist z. B. auch für meine Stämme M, und D durchaus denkbar und wohl nur bei jahrelang und auch durch zahlreiche Conjugationsperioden hindurch geführten Zuchten mit Sicherheit auszuschließen, z. B. bei meinen Stämmen  $\alpha$ , IV und h. Nur die mit solchen genau bekannten Rassen gewonnenen Ergebnisse können somit durchaus einwandfrei erscheinen; nur die etwa bei ihnen beobachteten dauernden Veränderungen der Reaktionsnorm dürfen mit Sicherheit als wirklich erbliche Veränderungen, als Mutationen, und nicht etwa als später Rückschlag einer durch lang zurückliegende äußere Faktoren hervorgerufenen Dauermodifikation gewertet werden.

Darin liegt natürlich eine weitere wesentliche Erschwerung der Verwertung an Infusorien gewonnener Ergebnisse für die Fragen der allgemeinen Erblchkeitslehre, zumal, wenn man bedenkt, daß derartig lange im Laboratorium geführte Zuchten, wie wir eingangs erwähnten, nicht so leicht auf Außeneinwirkungen reagieren wie frisch aus dem Freien gewonnene Infusorien. Aber bei den mannigfachen aus Beobachtungen an Protisten gezogenen Fehlschlüssen und irrigem Vergleichen von erblichem und nichterblichem Verhalten erscheint eine solche weitgehende kritische Zurückhaltung nicht unberechtigt.

#### 4. Umstimmungen durch lange Einwirkungen differenter Temperaturen.

Weitere Beispiele für das Auftreten von Dauermodifikationen konnten bei Beobachtungen festgestellt werden, die sich an die früher geschilderten Gewöhnungsexperimente anschließen. Die Versuche, meine Paramäcien durch langsame Gewöhnung an höhere Temperaturen oder Giftkonzentrationen in ihrer erblichen Konstitution umzustimmen, hatten, wie wir sahen, zu keinem positiven Ergebnis

geführt. Es blieb nun aber noch die Frage zu prüfen, ob nicht bei sehr langer Einwirkung möglichst verschiedener, aber noch innerhalb der Existenzbreite der betreffenden Rasse gelegener Außenbedingungen auf Abzweigungen der gleichen Individuallinie schließlich erbliche Verschiedenheiten ausgebildet werden können. Zu diesem Zwecke wurden zu wiederholten Malen Kulturen der Klone B,  $\alpha$  und IV von *Paramecium caudatum* sowie e und h von *Paramecium aurelia* geteilt und je eine der Zweigzuchten bei 30—31° und bei Zimmertemperatur (17—21°) gehalten. Von IV wurde noch eine 3. Parallelkultur bei 8—10° geführt. Die Versuchszeit erstreckte sich bei den längsten Beeinflussungen:

Bei IV und B von Januar 1911 bis Juli 1911, bei  $\alpha$  von Mai 1911 bis Februar 1912, ein zweites Mal von Januar 1913 bis Januar 1914, bei e von Februar 1912 bis März 1913<sup>1)</sup> und bei h von November 1915 bis Mai 1918, also über volle 2 $\frac{1}{2}$  Jahre, zum Teil noch darüber hinaus bis November 1918.

Die Prüfung erfolgte stets gleichmäßig in der Weise, daß die Kulturen aus den verschiedenen Temperaturen in Zimmertemperatur und gleichzeitig in frische Nährlösung gebracht und eine Woche danach untersucht wurden. Bei Stamm h wurde noch, um ganz sicher zu gehen, in jedem Zweige zunächst Parthenogenese besonders ausgelöst (obwohl, wie zuvor auseinandergesetzt worden ist, schon nach der gleichzeitigen Versetzung in frische Nährlösung und andere Temperatur mit dem Eintritt einer Parthenogenese gerechnet werden konnte). Geprüft wurde wiederum in erster Linie die Arsenfestigkeit und die Wärmeresistenz der Paramäcien, weiterhin aber auch die Körperlänge; bei Stamm h endlich statt der Länge die Teilungsrate.

Zum Verständnis der Ergebnisse ist es erforderlich, zunächst einmal das Verhalten der Paramäcien bei plötzlicher Versetzung in wesentlich höhere oder tiefere Temperatur kurz zu betrachten, wie es bereits in meiner vorläufigen Mitteilung 1913 geschildert wurde und in einem weiteren Teile dieser Studien im Zusammenhange mit den Wachstums- und Teilungserscheinungen eingehender dargestellt werden soll:

Die übliche ältere Anschauung, wonach Paramäcien in höherer Temperatur kleiner, in niedrigerer größer werden, konnte als zum mindesten ungenau und in dieser allgemeinen Form nicht zutreffend, erwiesen werden. Das Verhalten verschiedener Klone bei solchen

---

<sup>1)</sup> Die Wärmekultur von Stamm e wurde statt bei 30—31° nur bei 28—29° gehalten.

jähren Temperatursprüngen ist recht verschieden, besonders wenn man auch die Linien berücksichtigt, die zwar unter Umständen längere Zeit, aber doch nicht dauernd in der höheren oder tieferen Temperatur lebensfähig sind. Betrachtet man aber nur die Reaktion von Stämmen, die sich auch bei den veränderten Temperaturbedingungen dauernd halten können, so ist zwar zunächst ein Kleinerwerden bei erhöhter, ein Größerwerden bei herabgesetzter Temperatur nachzuweisen, nach einiger Zeit erfolgt aber eine rückläufige Entwicklung, die bei manchen Stämmen (z. B.  $\alpha$ ) zu einer vollständigen Rückkehr zur Ausgangsgröße führt, bei anderen wenigstens zu einer Annäherung an diese Norm. Verschieden wie der Grad der Regulation ist auch die Zeit, die bis zu ihrer Vollendung von den verschiedenen Stämmen beansprucht wird, und zwar schwankte sie bei der Versetzung von  $19^{\circ}$  in  $31^{\circ}$  zwischen 1 und 8 Wochen, während sie bei Überführung aus  $19^{\circ}$  in  $8^{\circ}$  stets erheblich länger, bis zu 4 Monaten, dauerte.

Parallel mit diesen Größenveränderungen gehen auch Änderungen in der Teilungsrate. Unter allen Umständen wird die Teilungsfrequenz in höherer Temperatur gesteigert, in niedriger herabgesetzt, gemäß der VAN T'HOFF'schen Regel. Doch ist diese Änderung in der ersten Zeit nach dem Temperaturwechsel etwas größer als späterhin. Bei diesen Veränderungen spielen nun parthenogenetische Prozesse eine wesentliche, wenn auch nicht die einzige Rolle. Von der Schnelligkeit und Häufigkeit ihres Auftretens hängt die Schnelligkeit der Regulation von Größe und Teilungsintensität zur Norm offenbar in erster Linie ab, und ihr bei manchen Stämmen schon gleich bei der Versetzung in eine wesentlich höhere Temperatur zu beobachtendes Auftreten bedingt die von mir schon 1913 erwähnten, nicht selten nachweisbaren Unregelmäßigkeiten der Teilungsrate, vor allem das gelegentlich vollständige Ausbleiben einer Teilung in den ersten 24 Stunden nach Überführung aus  $19^{\circ}$  in  $31^{\circ}$ .

Während somit Größe und Teilungsrate der Paramäcien bei Überführung in wesentlich abgeänderte Temperaturbedingungen in den ersten 8 Wochen normalerweise Schwankungen und scheinbare Abweichungen vom ursprünglichen Verhalten aufweisen können, werden unsere beiden anderen Indikatoren, die Gift- und Wärmoresistenz, vom Temperaturwechsel nicht so wesentlich berührt. Die „maxima-tolerata-Dosis“ bleibt, wenn man von der größeren Empfindlichkeit der Paramäcien während, kurz vor und unmittelbar nach einer Parthenogenese absieht, für Angehörige des gleichen Klonen normalerweise bei  $19^{\circ}$  die gleiche, ohne Rücksicht darauf, ob die

geprüften Infusorien dauernd bei Zimmertemperatur oder zuvor bei 31° gehalten worden waren.

An dem Verhalten der Gift- und Wärmeresistenz kann man somit schon sehr bald nach Überführung in eine mittlere Temperatur ersehen, ob ein vorangegangener längerer Aufenthalt unter extremen Temperaturbedingungen zu einer Umstimmung des gegebenen Klones geführt hat, während eben Veränderungen von Größe und Teilungsrate in den ersten Wochen nach Versetzung in mittlere Temperatur einen solchen Schluß noch nicht mit Sicherheit zulassen.

Nur nach Kenntnis und Berücksichtigung dieser „normalen“ Verhältnisse ist also eine vererbungstheoretische Beurteilung der nach langdauernder Einwirkung verschiedener Temperaturen zu beobachtenden Veränderungen möglich. Die erste Woche nach Zurückversetzung aus der Wärme oder Kälte in mittlere Temperatur muß also von vornherein im allgemeinen außer Betracht bleiben; bei dem Verhalten von Größe und Teilungsrate aber waren während der ersten 8 Wochen Schwankungen zu erwarten. — So betrachtet, erscheint das Ergebnis in allen Versuchsserien prinzipiell das gleiche und ist aus den beigefügten Tabellen 15 u. 16 leicht zu ersehen:

Bei Stamm B und  $\alpha$ , 1. Versuchsreihe, sehen wir sowohl bei der 1. Prüfung, wie auch bei allen späteren Untersuchungen keinerlei Unterschiede zwischen den 6 Monate bei verschiedenen Temperaturen geführten Parallelkulturen des gleichen Klones (Tab. 15).

Bei Stamm IV ergibt sich für die zuvor in der Kälte (8–10°) gehaltenen Paramäcien zunächst eine geringere Durchschnittslänge sowie eine Herabsetzung der Resistenz gegenüber der arsenigen Säure. Unterschiede, die sich aber bereits 10 Wochen später völlig ausgeglichen haben. Bei dem zuvor in höherer Temperatur geführten Zweige ist die anfänglich nachweisbare Veränderung der mittleren Länge schon nach 6 Wochen geschwunden (s. Tab. 15 S. 98).

Etwas anders liegen die Verhältnisse bei  $\alpha$ , 2. Versuchsreihe, e und h, also bei den am längsten durchgeführten Versuchen. Wir finden hier noch längere Zeit nicht unbeträchtliche Unterschiede nicht nur der Größe und Teilungsrate, sondern auch der Wärmeresistenz, Unterschiede, die bei  $\alpha$  3 Monate hindurch, bei e und h sogar zum Teil noch nach 6 Monaten nachweisbar blieben. Das Endresultat ist aber auch in diesen Fällen das gleiche wie zuvor, nämlich eine vollständige Übereinstimmung aller Parallelkulturen eines Klones (vgl. Tab. 16 [S. 99] u. Fig. 4 [S. 104 u. 105]).

Durch die langdauernde Einwirkung wesentlich verschiedener Außentemperaturen war also gleichfalls keine dauernde erbliche

Verhalten der Paramäcien nach langdauernder Einwirkung verschiedener Temperaturen.  
Tabelle 15.

Stamm	Mittlere Länge				Vertragene Grenzkonzentration von As <sub>2</sub> O <sub>3</sub> in Salatwasser				Maximale vertragene Temperatur			
	a	b	c	d	a	b	c	d	a	b	c	d
1) dauernd bei Zimmertemperatur gehalten B 2) nach 6 Monaten bei 31°	42,85	43,2	42,75	42,9	Proz. 1	Proz. 0,9	Proz. 0,9	Proz. 1	Grad 32	Grad 31	Grad 32	Grad 32
	42,4	42,8	42,3	43,05	0,9	0,9	1	0,9	32	32	32	32
1) dauernd bei Zimmertemperatur a 2) nach 7 Monaten bei 31°	41,7	41,2	41,55	41,1	0,9	0,9	0,9	0,9	37	37	37	37
	41,15	41,6	41,2	41,4	0,9	0,9	0,9	0,9	37	37	37	37
1) dauernd bei Zimmertemperatur 2) nach 6 Monaten Zucht bei 31° IV 3) nach 6 Monaten Zucht bei 8—10°	44,6	44,9	44,7	44,95	0,9	1	0,9	0,9	31	31	31	31
	45,5	45,3	44,6	44,8	0,9	1	0,9	0,9	31	31	31	31
	43,25	43,5	43,4	44,5	0,7	0,9	0,9	1	31	31	31	31

a = 1 Woche  
b = 4 Wochen  
c = 6 " "  
d = 3 Monate

nach Übertragung in Zimmertemperatur und frische Nahrung.

Tabelle 16.  
Verhalten der Paramácien nach langdauernder Einwirkung verschiedener Temperaturen.

Stamm	Mittlere Länge						Vertragene Grenzkonzentration von As <sub>2</sub> O <sub>3</sub> in Salatwasser						Maximale vertragene Temperatur					
	a	b	c	d	e	f	a	b	c	d	e	f	a	b	c	d	e	f
1) dauernd bei Zimmertemperatur gehalten " 2) nach einjähriger Kultur bei 30-31°	41,05	41,6	41,2	41,4	40,95	—	0,9	0,9	0,75	0,9	0,9	—	37	37	37	37	37	—
	42,6	42,8	42,45	41,3	40,8	—	0,5	0,9	0,9	0,75	0,9	—	35	35	35	37	37	—
1) dauernd bei Zimmertemperatur gehalten e 2) nach 13 monatiger Kultur bei 28-29°	35,3	35,4	35,7	35,5	36,2	35,7	0,7	0,7	0,7	0,7	0,5	0,7	29	29	29	29	29	29
	34,2	34,1	34,5	34,3	34,75	35,9	0,5	0,7	0,7	0,7	0,5	0,7	31	31	31	31	29	29
1) dauernd bei Zimmertemperatur gehalten b 2) nach 2 1/2 jähriger Kultur bei 30-31°	Anzahl der Teilungen innerhalb 5 Tagen																	
	7	9	9	8	7	7	0,9	0,9	0,9	0,9	0,9	0,9	36	35	35	35	35	35
	11	12	13	11	8	7	0,75	0,9	0,9	0,9	0,9	0,9	37	37	37	35	35	35

a = 1 Woche  
b = 1 Monat  
c = 2 Monate  
d = 3 " "  
e = 6 " "  
f = 9 " "

nach Übertragung in Zimmertemperatur und frische Nahrung.

Veränderung innerhalb eines Klones zu erzielen. Auch hier kam es nur zur Anlösung von Modifikationen oder Dauermodifikationen.

Die Verhältnisse liegen auch nicht etwa so, daß durch andauernde Verlängerung der Einwirkungszeit immer weitere Steigerungen der Dauermodifikationen erzielt werden; so blieb beispielsweise die Dauermodifikation des Stammes h, der 2 $\frac{1}{2}$  Jahre lang in den verschiedenen Zweigen verschiedenen Außentemperaturen ausgesetzt war, hinterher unter normalen Kulturbedingungen weniger lange erhalten, als die analogen Veränderungen bei Stamm e, den ich nur etwas über 1 Jahr den modifizierenden Außenbedingungen unterworfen hatte.

Auch bei diesen Versuchsserien sind im übrigen die Veränderungen in ihrem Wesen als Dauermodifikationen daran zu erkennen, daß sie ganz wie die zuvor beschriebenen Festigungen gegen arsenige Säure durch Auslösung von Conjugationen oder häufigen Parthenogenesen sehr rasch gebrochen werden können. Damit dürfte auch einer vielleicht naheliegenden andersartigen Deutung der mitgeteilten Befunde der Boden entzogen werden, die etwa versuchen wollte, in den zunächst erzielten Veränderungen wirkliche Umstimmungen der Erbanlagen, echte Mutationen, und in der späteren Rückkehr zur Norm den umgekehrten, eben durch die „normalen“ Außenbedingungen hervorgerufenen Artbildungsprozeß (Rückmutation) zu erblicken.

Unsere im Prinzip schon 1912 abgeschlossenen Befunde weichen damit scheinbar erheblich von den inzwischen mitgeteilten Ergebnissen MIDDLETON's ab, die mir infolge des Krieges erst bei Fertigstellung dieser Veröffentlichung zu Gesicht kamen. MIDDLETON untersuchte ebenfalls Parallelkulturen des gleichen Klones (von *Stylonychia pustulata*) die er unter verschiedenen Temperaturbedingungen hielt und dann nach einiger Zeit zur Prüfung ihres Verhaltens in die gleiche Temperatur brachte. Er glaubt dabei eine dauernde erbliche Veränderung mancher seiner Kulturen durch länger währende Temperatureinwirkungen erzielt zu haben. Diesem Schluß können wir jedoch nicht beipflichten. Denn eine genauere Prüfung seiner Tabellen und Angaben zeigt mit aller Deutlichkeit, daß es sich bei den angeblich erblichen Umstimmungen zum Teil nur um die von uns beschriebenen ganz normaler Weise in den ersten Wochen nach Temperaturwechsel auftretenden Regulationsvorgänge, daneben aber auch um schwere Schädigungen der verwandten Infusorien handelt. Die Temperaturen, mit denen MIDDLETON in diesen Fällen arbeitete, waren offenbar für die untersuchten Stämme

zu hoch und ließen keine dauernde Weiterzucht zu. Die vermeintlich erbliche Änderung der Teilungsrate ist also nur der Ausdruck einer langsam aber sicher zum Untergang all dieser Kulturen führenden Schädigung, ein Umstand, den MIDDLETON selbst zugibt. Wie ich es aber schon 1913 bei einem ähnlich liegenden Fall JENNINGS gegenüber ausführte, dürften derartige nur das allmähliche Absterben der Paramäcien widerspiegelnde Veränderungen, wie wir sie bei Infusorien gar nicht selten beobachten können, kaum mit wirklich erblichen Umstimmungen zusammengeworfen werden.

Die in unseren Versuchen unter sehr langer Einwirkung höherer Temperatur entstandenen Dauermodifikationen zeigten aber in mancher Hinsicht ein von den durch arsenige Säure oder Calciumverbindungen hervorgerufenen Umstimmungen abweichendes Verhalten. Von besonderem Interesse erscheinen bei diesen Veränderungen die Beziehungen zu den geschlechtlichen Vorgängen, Parthenogenesis und Conjugation, die an den mit Stamm h durchgeführten Versuchsserien genauer verfolgt werden konnten. Es ergab sich nämlich hierbei mit aller Deutlichkeit, daß die durch monate- oder jahrelange Einwirkung höherer Temperatur hervorgerufene Änderung der Teilungsrate nur im Zusammenhange mit geschlechtlichen Vorgängen, dagegen niemals in der Zwischenzeit bei rein vegetativer Vermehrung zurückgebildet wurde.

In der Regel bringt, wenn keine allzulange Einwirkung extremer Temperaturen vorangegangen ist, schon die erste Parthenogenesis die Einstellung auf die Norm. Da nun viele Klone von Paramäcien, wie schon erwähnt, auf die Versetzung in wesentlich veränderte Temperatur und Ernährungsbedingungen sogleich oder nach wenigen Tagen mit einsetzenden parthenogenetischen Prozessen reagieren, so ist das scheinbare Ausbleiben einer Nachwirkung des Aufenthaltes in hohen oder tiefen Temperaturen bei vielen Übertragungen (und auch bei einem Teile der zuvor geschilderten langdauernden Versuchsreihen) ohne weiteres verständlich. In manchen Fällen, besonders, aber keineswegs immer, nach sehr langer Einwirkungsdauer extremer Temperaturen, bringt aber die erste Parthenogenesis noch nicht die Rückkehr zur Norm. Alsdann bleibt die abgeänderte Teilungsrate (und wohl auch Größe) während der ganzen darauf folgenden vegetativen Vermehrungsperiode ziemlich unverändert bestehen, um erst mit der nächsten Parthenogenesis zu schwinden. Bringt auch die zweite Parthenogenesis keine Rückbildung der Umstimmung der Teilungsrate, wie bei der  $2\frac{1}{2}$ –3 Jahre in  $31^{\circ}$



gehaltenen Kultur von h, so ist die Wiederkehr der ursprünglichen Reaktionsnorm erst im Anschluß an die dritte Parthenogenesis möglich usw.

Damit ist auch eine Erklärung nicht nur für das Verhalten der hier geschilderten, längere Zeit bei differenten Temperaturen geführten Parallelkulturen des gleichen Klones gegeben, sondern ebenso auch für die schon früher erhobene Feststellung, daß die endgültige Anpassung an wesentlich veränderte Temperaturbedingungen, die Regulation zur Norm, bei Versetzung aus 19 in 31° in manchen Fällen bereits in einer Woche, in anderen erst nach 6—8 Wochen, bei Versetzung aus 19 in 8° sogar erst nach 4 Monaten vollzogen ist.

Andererseits weist aber die enge Verknüpfung von Parthenogenesis und diesen Umstimmungen der Reaktionsnorm darauf hin, daß hier andere Verhältnisse vorliegen als bei den von uns zuvor geschilderten, unter der Einwirkung von Calciumverbindungen entstandenen Dauermodifikationen, die sich gleichfalls in einer Herabsetzung der Teilungsrate manifestierten.

Noch bedeutsamer sind aber die Unterschiede in dem Verhalten der verschiedenen Umstimmungen nach einer Conjugation: Während die Arsenfestigungen durch eine Conjugation mit einem Schläge beseitigt wurden, während bei den durch Calciumionen hervorgerufenen Veränderungen sich die Conjugation gleichfalls als das stärkste, allen sonstigen Beeinflussungen und auch der Parthenogenesis weit überlegene Mittel zur Rückkehr zur Reaktionsnorm erwies, ist gegenüber den durch lange Temperatureinwirkungen bedingten Dauermodifikationen kein Unterschied in der Wirkung von Conjugation und Parthenogenesis festzustellen. Ebenso wie schon durch eine Parthenogenesis, werden durch eine Conjugation die Umstimmungen der Reaktionsnorm häufig sofort beseitigt. Daneben finden sich aber auch Fälle, in denen die Abänderung die Conjugation überdauert, und ganz wie bei den Parthenogenesisen erfolgt der Rückschlag alsdann erst bei der nächsten oder einer der folgenden Conjugationen oder Parthenogenesisen, wie uns Protokoll 8 ohne weiteres zeigt. In ihrer Wirkung auf diese Abänderungen sind somit beide geschlechtlichen Vorgänge gleich und können sich gegenseitig vollständig ersetzen — ein Verhalten, das wiederum auf wesentlich andere Bedingungen bei dem Zustandekommen und Schwinden der hier geschilderten Dauermodifikationen gegenüber allen zuvor behandelten schließen läßt.

Worauf nun dieses Verhalten beruht, läßt sich noch klarer

aus weiteren in diesem Zusammenhange angestellten Beobachtungen erschließen.

Ein Zweig der Kultur des Stammes h, die von November 1915 bis Mai, zum Teil bis November 1918 bei 31° gezüchtet worden war und alsdann bei Versetzung in Zimmertemperatur die zuvor geschilderten Umstimmungen zeigte, wurde am 18. Mai 1918 in Zimmertemperatur überführt und in Objektträgerkulturen weiter gezogen. Am 21. Mai kam es in diesen Objektträgerkulturen zur Parthenogenesis — die Zuchten blieben auch danach bei vegetativer Vermehrung abgeändert. Am 14. Juni traten in einer neben den Zählkulturen nach der Parthenogenesis angelegten Massenzucht vereinzelte Conjugationspärchen auf, die isoliert und jedes für sich getrennt weiter geführt wurden. Aus den Exconjuganten zweier dieser Pärchen, die nach dem Auseinandergehen getrennt geführt worden waren, wurden vier verschiedene Kulturen erhalten, von denen drei schon bei der ersten Prüfung, vierzehn Tage nach der Conjugation, die in der Wärme erzielte Umstimmung vollständig verloren hatten, während bei der vierten die Dauermodifikation unverändert fortbestand und erst bei der übernächsten Parthenogenesis vollkommen zurückgebildet wurde.

Wir hatten in diesem Falle also einen sich lange erhaltenden Unterschied zwischen den aus den beiden Partnern einer Conjugation hervorgegangenen Zuchten, eine Feststellung, die nach den Ergebnissen von JENNINGS über die weitgehende Übereinstimmung von Exconjuganten einer Paarung durchaus ungewöhnlich erscheint, aber ausnahmsweise sowohl von JENNINGS (1911) wie auch von mir selbst (JOLLOS 1913a) in einem einzelnen Falle erhoben werden konnte. Die weiteren Beobachtungen an den durch langdauernde Wärme einwirkung hervorgerufenen Dauermodifikationen unseres Stammes h erlauben uns aber, auch für diese Erscheinungen eine neue Erklärung zu geben:

Bei anderen Abzweigungen des Stammes h, die nach etwa dreijährigem Aufenthalte bei 31° (während der letzten Monate hatte die Temperatur allerdings zeitweise nur 26—29° betragen) in Zimmertemperatur versetzt und hier in den normalen Bouillonlösungen zum großen Teil in Objektträger-Zählkulturen weitergeführt wurden, ergab sich nämlich im Zusammenhange mit den geschlechtlichen Vorgängen folgendes aus unserem Protokoll 8 und Fig. 4 genauer zu ersiehendes auffälliges Verhalten:

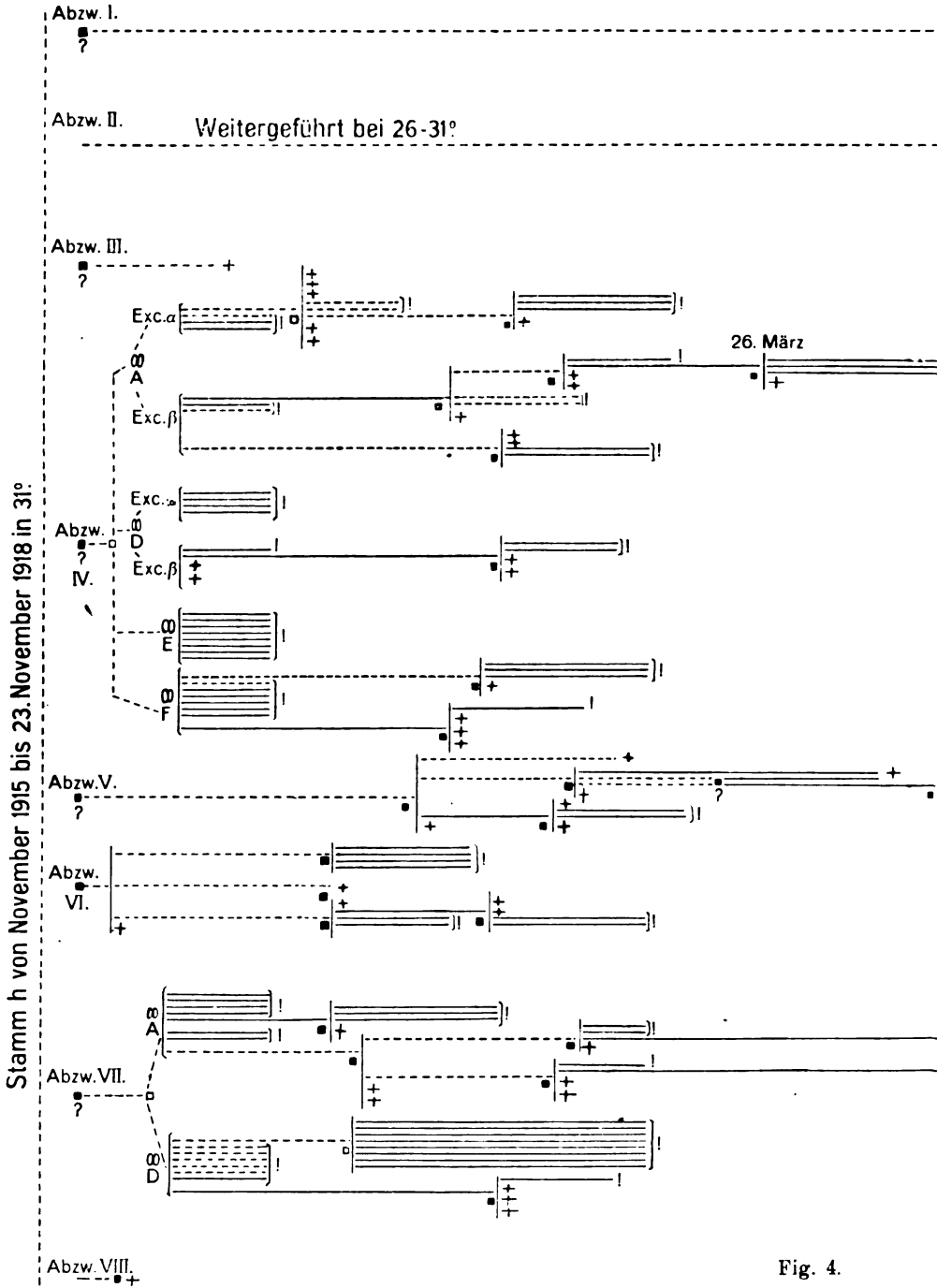
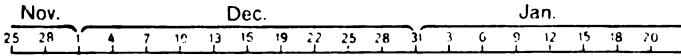
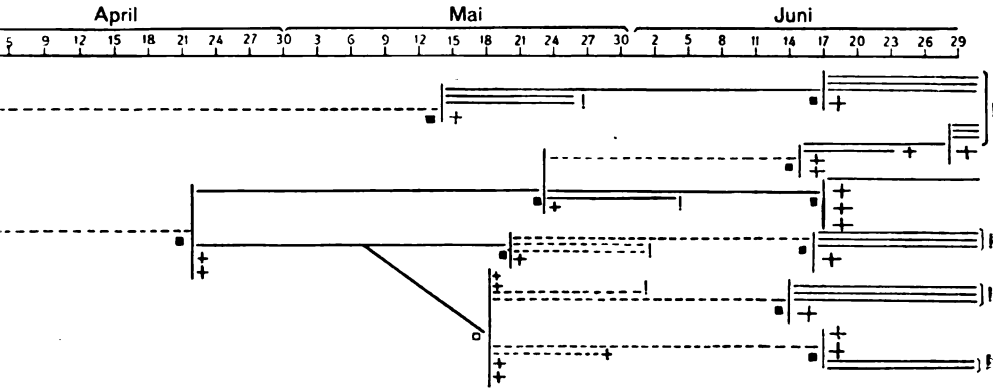


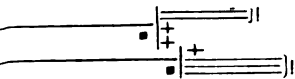
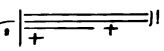
Fig. 4.

Übersichtsbild des Verhaltens durch langdauernde  
Nähere Erklärung im



Zeichenerklärung:

- Parthenogenese
- Conjugation
- | Nicht weitergeführt (vom Tage des | an)
- Abgeänderte Reaktionsnorm
- Normales Verhalten des Ausgangsstammes
- † eingegangen oder abgetötet



## Protokoll 8.

Vorprüfung: Am 2. November 1918 wird eine Anzahl Paramäcien aus einer seit November 1915 bei 31° gehaltenen Kultur von Stamm h (*P. aurelia*) in Zimmertemperatur gebracht. 5. November Parthenogenese. 16./22. November Prüfung von Teilungsrate und Wärmeresistenz der als h 31 bezeichneten Nachkommen dieser Paramäcien sowie von Individuen aus ständig bei Zimmertemperatur geführten Zuchten von h, die am 7. November Parthenogenese durchgemacht hatten.

Anzahl der innerhalb 24 Stunden entstandenen Individuen	Datum							Verhalten bei einer Temperatur von		
	16.	17.	18.	19.	20.	21.	22.	Nov.	35°	37°
H (Kontrolle)	2	2	4	2	4	2	4		0	⊕
H 31	4	4	8	4	8	8	4		0	0

angesetzt am 16.,  
geprüft am 22. Nov.

Die 3 Jahre bei ca. 31° gehaltenen Paramäcien des Klones h weisen also gegenüber den dauernd bei Zimmertemperatur geführten Zuchten des gleichen Klones (ganz wie dies bereits ein halbes Jahr zuvor nachgewiesen war — vgl. Tabelle 16) eine Beschleunigung der Teilungsfrequenz und gleichzeitig eine gesteigerte Wärmeresistenz auf. Diese beiden Indikatoren liegen auch allen späteren Prüfungen zugrunde, bei denen stets zunächst die Teilungsrate während mindestens 5 Tagen festgestellt und das hierbei gewonnene Resultat hinterher durch den Temperaturversuch kontrolliert wurde.

Da bei Zählkulturen des unvorbehandelten Stammes h bei Zimmertemperatur in 0,025 Proz. Liebig-Fleischextrakt-Bouillon drei Teilungen innerhalb von 24 Stunden so gut wie nie vorkamen, so genügte zur Feststellung der abgeänderten Reaktionsnorm der mehrmalige Nachweis der Entstehung von 8 Individuen aus einem isolierten Paramäcium innerhalb von 24 Stunden.

Zur Prüfung der Wärmeresistenz genügte die Versetzung in den 37° Thermostaten, da hierin der unvorbehandelte Stamm h längstens innerhalb von 8 Tagen ausstarb, die abgeänderten Paramäcien dagegen zum mindesten mehrere Wochen lebensfähig blieben.

(Das Übersichtsbild (Fig. 4) berücksichtigt nur das Verhalten der Teilungsrate, nicht dagegen die seltenen Fälle, in denen Abänderung der Teilungsrate und Abänderung der Wärmeresistenz nicht streng parallel gehen!)

23. November 1918. Von der seit November 1915 bei ca. 31° in 0,025 Proz. Liebig-Bouillon gehaltenen Zucht von h werden 8 Zweigkulturen angelegt, und zwar 2 Massenkulturen in  $\frac{1}{4}$  l-Gläsern (Abzweigungen I und II), 4 als Zählkulturen in hohlgeschliffenen Objektträgern (Abzweigung III, V, VI, VIII) und 2 in kleinen Uhrschildchen (Abzweigung IV und VII) mit je 20–100 Individuen. Abzweigung II wird weiter bei einer Temperatur von meist ca. 31° belassen (doch kam es wegen Störungen des Thermostaten sowie wegen wiederholter Unterbrechungen der Gas- und elektrischen Stromversorgung in jener Zeit gelegentlich zu Schwankungen zwischen 24 und 33°) — alle anderen Abzweigungen werden bei Zimmertemperatur geführt.

Abzweigung I.

25. November. Parthenogenesis wahrscheinlich.

16./21. Dezember 1918. Abgeänderte Teilungsrate nachgewiesen.

21. Dezember 1918 bis 7. Januar 1919. Probe in 37° versetzt; zeigt abgeänderte Wärmeresistenz.

6.—20. April. Abgeänderte Teilungsrate und Wärmeresistenz an Probe nachgewiesen.

5. Mai 1919. Abzweigung I wird als Objektträger-Zählkultur weitergeführt und weist folgende Versuchsziffer auf.

Mai																			
6.	7.	8.	9.	10.	11.	12.	13.	14.	15.	16.	17.	18.	19.	20.	21.	22.	23.	24.	25.
4	4	8	4	8	4	2	1+	4	4	2	4	2	2	2	4	2	4	2	2
								4	4	2	2	2	2	2	2	4	2	2	2
								4	4	2	2	2	2	2	4	2	4	2	4

Mai										Juni										
26.	27.	28.	29.	30.	31.	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.	10.	11.	12.	13.	14.	15.
2	4	2	2	4	2	4	4	2	2	2	4	2	2	4	2	4	2	4	2	2
2)	nicht weitergeführt																			

Juni										Juli					
16.	17.	18.	19.	20.	21.	22.	23.	24.	25.	26.	27.	28.	29.	30.	1.
1+	4	2	2	4	2	2	4	2	2	4	2	4	2	4	4
	2	2	4	2	4	2	4	2	4	2	4	2	4	2	4
	2	2	4	2	4	2	2	4	2	2	4	2	2	4	4
	nicht weitergeführt														

15. Mai 1919. Von jeder der drei Zählkultur-Parallelzuchten werden zwei Paramäcien in je einer Zimmermannschale mit Bouillon in 37° versetzt.

22. Mai. Alle drei Zuchten tot.

18. Juni. Die zur Weiterführung der Zählkulturen nicht gebrauchten Individuen werden in zwei Zimmermannschalen mit Bouillon gesammelt.

25. Juni. Die beiden Zimmermannschalen enthalten zahlreiche Paramäcien, werden in 37° versetzt.

1. Juli. Beide Zuchten ausgestorben.

Auch in diesem Protokoll bedeutet:

+ hinter einer Zahl = Parthenogenesis  
 ⊕ " " " = tot.



## Prüfungen der Wärmeresistenz.

24. April. Massenkultur in 37° versetzt.
5. Mai. Gute Kultur! } also hier kein vollständiger Parallelismus im Erhaltenbleiben von Wärmeresistenz und Teilungsbeschleunigung (vgl. S. 110 Anmerkung).
12. Mai. desgl. }
15. Mai. Neue Massenkultur in 37° versetzt.
30. Mai. Kultur leidlich!
1. Juni. Von den sechs Zweigen, die am 19. bzw. 22. Mai Parthenogenese und von den drei Zweigen, die am 17. Mai Conjugation durchgemacht haben (vgl. Tabelle) werden neun Massenkulturen in 37° versetzt. Bezeichnungen entsprechen der Tabelle.
14. Juni. Kulturen b, c, f tot! Kulturen a, d, e und alle drei Exconjuganten-Kulturen gut.
26. Juni. Von den zehn noch geführten Zweigen (vgl. Tabelle) werden zehn Massenkulturen in 37° versetzt.
4. Juli. Alle Kulturen in 37° ausgestorben.

## Abzweigung III.

25. November. Parthenogenese.
26. November bis 7. Dezember. Abgeänderte Teilungsrate.
8. Dezember. Tot.

## Abzweigung IV.

25. November. Parthenogenese?
28. November. Conjugationsepisode. Es werden 10 Pärchen (A—K) isoliert und getrennt weitergeführt.
29. November. Von Pärchen A und D die auseinandergegangenen Exconjuganten ( $\alpha$  und  $\beta$ ) getrennt weitergeführt.
30. November. Desgleichen von Pärchen B und C.
4. Dezember. Exconjuganten von B und C und die Pärchen (bzw. Exconjuganten von) G, H, I, K tot, zum Teil schon am 2. und 3. Dezember gestorben. Die je 4 Abkömmlinge jedes Exconjuganten von A und D sowie die je 8 aus den beiden ersten Teilungen der Pärchen E und F hervorgegangenen Individuen werden isoliert weitergezogen.
5. Dezember. 2 Zweige der Nachkommen von D Exconj.  $\beta$  gestorben.
- 6./13. Dezember und später. Prüfung von Teilungsintensität und Wärmeresistenz der 30 noch lebenden Zweigzuchten. Wie die folgende Tabelle zeigt, sind die Nachkommen von Pärchen D und E sogleich sämtlich zur Norm zurückgeschlagen, die Nachkommen von A und F verhalten sich verschieden.



Dezember

	6.	7.	8.	9.	10.	11.	12.	13.	14.	15.	16.	17.	18.	19.	20.	21.	22.	23.	24.	25.	26.	27.	28.	29.	30.	31.					
A Exconj. $\alpha$	1	4	8	4	8	-Massenkultur - Conjug.-Pärchen								4	8	4	4	8	} nicht weitergeführt												
	2	4	4	3	8	4	4	8	4									4	7	4	4	8	} weitergeführt								
	3	2	2	4	2	2	2	4	2									4	6	7	4	4	4	4	4	4	8	4	6		
	4	2	2	4	2	2	2	2	4									-5 Abzw. tot													
A Exconj. $\beta$	1	2	4	2	2	2	4	2	2	2	3	2	2	4	2	2	2	2	4	2	2	2	2	4	1+	4	8				
	2	2	4	2	2	4	2	2	} nicht weitergeführt								8													8	
	3	4	4	6	8	4	4	6									4													4	
	4	4	4	4	8	4	4	8	4	3	4	4	4	6	4	4	4	4	3	4	8	4	4	4	4	4	5	4			
D Exconj. $\alpha$	1	2	4	2	2	2	4	2	2	} nicht weitergeführt																					
	2	2	4	2	2	2	4	2	2																						
	3	2	2	2	4	2	4	4	2																						
	4	2	2	2	4	2	4	2	2																						
D Exconj. $\beta$	1	2	2	2	2	4	2	4	nicht weitergeführt																						
	2	2	2	2	4	2	2	4	2	2	2	4	2	2	2	2	3	4	2	2	2	2	4	2	4	2	2				
E	1	2	2	2	2	2	4	2	2	} nicht weitergeführt																					
	2	2	2	2	2	2	4	2	2																						
	3	2	2	2	3	2	4	2	2																						
	4	2	2	2	2	2	4	3	2																						
	5	2	2	2	2	3	2	4	2																						
	6	2	2	2	2	2	4	2	2																						
	7	2	2	2	4	2	2	2	2																						
	8	2	2	2	4	2	2	2	2																						
F	1	4	2	4	8	8	2	4	4	4	4	8	4	4	3	4	4	8	4	4	4	4	4	4	4	8	8	4			
	2	4	4	4	8	2	4	4	8	} nicht weitergeführt																					
	3	2	2	2	2	2	4	2	2																						
	4	2	2	2	2	4	2	2	2																						
	5	2	2	2	2	2	2	2	2																						
	6	2	2	2	4	2	2	4	2																						
	7	2	2	2	2	4	2	4	2																						
	8	2	2	2	2	4	2	2	2	2	4	2	2	2	2	4	4	2	2	2	2	4	2	2	2	1+	4				

Prüfung des Verhaltens bei 37°.

A Exconj. $\alpha$	1	Sämtliche <sup>1)</sup> acht am 13. Dezember eingesetzten Zuch- ten sind am 20. Dez. am Leben, desgl. am 6. Januar 1919.	A $\alpha$ 1.	Ansatz vom 30. Dez. am 10. Jan. gut. An- satz vom 12. Jan. am 20. Jan. tot.
	2		A $\beta$ 1.	Ansatz vom 24. Dez. am 3. Jan. gut <sup>1)</sup> . Ansatz vom 13. Jan. am 20. Jan. tot.
A Exconj. $\beta$	3		A $\beta$ 4.	Ansatz vom 24. Dez. am 3. Jan. gut. 2 Ansätze vom 13. Jan. am 20. Jan. tot.
	4			
D Exconj. $\alpha$	1	Angesetzt am 12. Dezember. Am 20. Dezember sind sämtliche Zuchten in 37° tot.		
	2			
	3			
D Exconj. $\beta$	1			
	2			

<sup>1)</sup> Die Abänderung der Wärmeresistenz geht also besonders bei A  $\beta$  1 (ferner bei A  $\alpha$  3, A  $\alpha$  4 und A  $\beta$  2) nicht immer der Veränderung der Teilungsrate parallel, sondern hält sich auch dort, wo die Teilungsrate vorübergehend zur Norm

IV.

Januar

1. 2. 3. 4. 5. 6. 7. 8. 9. 10. 11. 12. 13. 14. 15. 16. 17. 18. 19. 20.

Massenkultur 1+4  $\left\{ \begin{array}{l} 2 \ 2 \ 4 \ 2 \ 2 \ 2 \ 2 \ 4 \ 2 \ 2 \ 2 \ 4 \ 2 \\ 2 \ 2 \ 2 \ 2 \ 4 \ 2 \ 2 \ 4 \ 2 \ 2 \ 4 \ 2 \ 4 \ 2 \\ 2 \ 2 \ 2 \ 2 \ 4 \ 3 \ 2 \ 2 \ 2 \ 4 \ 2 \ 2 \ 4 \ 2 \end{array} \right\}$  nicht weitergeführt

März 26. 27. 28. 29. 30. 31. April 1. 2. 3. 4. 5.

4 4 4 4 8  $\left\{ \begin{array}{l} 4 \ 2 \ 2 \ 2 \ 2 \ 4 \ 2 \ 2 \ 4 \ 3^1) \\ 2 \ 4 \ 2 \ 2 \ 2 \ 5 \ 2 \ 2 \ 2 \ 4^2) \end{array} \right\}$  nicht weitergeführt  
 4 4 4 4 4 7 4 4 4 4 4 8 }  
 5 8 4 4 4 6 4 4 3 4 4 8 }  
 8 4 2 2+4  $\left\{ \begin{array}{l} 2 \ 2 \ 2 \ 4 \ 2 \ 2 \ 2 \ 4 \ 2 \ 2 \ 4 \ 3 \ 2 \\ 2 \ 2 \ 2 \ 2 \ 3 \ 4 \ 2 \ 2 \ 4 \ 2 \ 2 \ 4 \ 2 \end{array} \right\}$  nicht weitergeführt  
 1) nicht weitergeführt  
 2) als Massenkultur weitergeführt bis 24. März, dann wieder Zählkultur

2 2 2 1+4  $\left\{ \begin{array}{l} 2 \ 2 \ 2 \ 4 \ 2 \ 2 \ 2 \ 4 \ 2 \ 2 \\ 2 \ 2 \ 2 \ 2 \ 3 \ 2 \ 2 \ 4 \ 2 \ 2 \end{array} \right\}$  nicht weitergeführt

4 1+4  $\left\{ \begin{array}{l} 2 \ 2 \ 4 \ 2 \ 2 \ 2 \ 2 \ 3 \ 4 \ 2 \ 2 \ 4 \ 2 \ 2 \ 2 \\ 2 \ 2 \ 2 \ 2 \ 2 \ 4 \ 2 \ 2 \ 4 \ 2 \ 2 \ 2 \ 4 \ 2 \\ 2 \ 4 \ 2 \ 2 \ 2 \ 2 \ 2 \ 2 \ 4 \ 2 \ 2 \ 2 \ 4 \ 4 \end{array} \right\}$  nicht weitergeführt

+  
+  
2 2 4 2 2 2 2 4 2 4 2 2 nicht weitergeführt

E  $\left\{ \begin{array}{l} 1 \\ 2 \\ 3 \\ 4 \\ 5 \\ 6 \\ 7 \\ 8 \end{array} \right\}$  Angesetzt am 13. Dezember. Am 20. Dezember sämtliche Zuchten in 37° tot.

F  $\left\{ \begin{array}{l} 1 \\ 2 \\ 3 \\ 4 \\ 5 \\ 6 \\ 7 \\ 8 \end{array} \right\}$  Angesetzt am 13. Dezember. Am 20. Dezember sind sämtliche Zuchten in 37° tot.  
 gute Ansatz vom 13. Jan. 1919  
 am 13. Dez. 6. Jan. } Kulturen. am 20. Jan. tot.

zurückgekehrt ist, abgeändert — ein Umstand, der gleichfalls zugunsten des angenommenen Bestehenbleibens plasmatischer Abänderungen in diesen Fällen angeführt werden kann.



## Abzweigung VI.

25. November. Parthenogenensis.
26. November. Aus den durch die ersten beiden Teilungen während bzw. nach der Parthenogenensis entstandenen 4 Individuen werden drei Subkulturen in Uhrschälchen angelegt. Das vierte *Paramecium* wird zur Bestätigung der erfolgten Parthenogenensis fixiert und gefärbt.
12. Dezember. Die drei Subkulturen werden als Zählkulturen fortgesetzt und zeigen dann folgende Vermehrungsziffer:

|  | Dezember |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     | Januar |     |     |     |     |     |    |    |    |    |    |    |    |    |    |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |
|--|----------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|--------|-----|-----|-----|-----|-----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| I. 4 4 8 4 7 2+ 4<br>II. 4 4 8 4 6 2+ ⊕<br>III. 6 4 4 4 8 2+ 4 | 13.      | 14. | 15. | 16. | 17. | 18. | 19. | 20. | 21. | 22. | 23. | 24. | 25. | 26.    | 27. | 28. | 29. | 30. | 31. | 1. | 2. | 3. | 4. | 5. | 6. | 7. | 8. | 9. | 10. | 11. | 12. | 13. | 14. | 15. | 16. | 17. | 18. | 19. | 20. |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |
|  | 2        | 2   | 4   | 4   | 4   | 2   | 2   | 2   | 4   | 4   | 2   | 2   | 2   | 2      | 5   | 2   | 2   | 2   | 4   | 2  | 2  | 4  | 2  | 2  | 2  | 2  | 2  | 2  | 2   | 2   | 2   | 2   | 2   | 2   | 2   | 2   | 2   | 2   | 2   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |
| nicht weitergeführt  |          |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |        |     |     |     |     |     |    |    |    | 2  | 2  | 2  | 2  | 2  | 2  | 2   | 2   | 2   | 2   | 2   | 2   | 2   | 2   | 2   | 2   | 2   | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 |   |
| nicht weitergeführt  |          |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |        |     |     |     |     |     |    |    |    | 1  | 4  | 2  | 2  | 2  | 2  | 2   | 2   | 2   | 2   | 2   | 2   | 2   | 2   | 2   | 2   | 2   | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 |

8. Dezember. Von jeder Subkultur wird eine Abzweigung in 37° versetzt.
18. Dezember. Alle drei Abzweigungen gut.
1. Januar. Von Zählkultur I und III je eine Abzweigung in 37° versetzt.
10. Januar. Beide Abzweigungen tot.



18. Januar. Zwei Abzweigungen von A 8 (vgl. Tabelle) werden als Massenkulturen in  $\frac{1}{4}$  l-Gläsern weitergeführt.

1./15. April. Von beiden Abzweigungen Zählkulturen angelegt, die in Teilungsrate und Verhalten gegenüber 37° die normalen Verhältnisse von h zeigen.

19. April. Parthenogenese in der einen der Abzweigungen.

21. April. Parthenogenese in der anderen der Abzweigungen.

Prüfung der Vermehrungsziffer:

|    | 19. | 20. | 21. | 22. | 23. | 24. | 25. | 26. | 27. | 28. | 29. | 30. | 1. Mai |                       |
|----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|--------|-----------------------|
| a) | 1+  | 2   | 2-4 | 2   | 2   | 2   | 2   | 4   | 2   | 3   | 4   |     |        | } nicht weitergeführt |
|    |     |     | 2-4 | 2   | 2   | 2   | 4   | 2   | 2   | 4   |     |     |        |                       |
| b) | 2   | 2   | 1+  | 4   | 2   | 2   | 4   | 4   | 2   | 2   | 2   | 2   | 4      | } nicht weitergeführt |
|    |     |     |     | 2   | 2   | 4   | 2   | 2   | 2   | 4   | 2   | 2   |        |                       |
|    |     |     |     | 2   | 2   | 4   | 2   | 2   | 2   | 3   | 2   | 4   |        |                       |

Prüfungen der Temperaturresistenz.

13. Dezember. Von jedem der 16 Zweige eine Massenkultur in 37° versetzt.

22. Dezember. Kulturen A 1, A 2, A 3, A 4, A 5, A 6, A 7, D 8 tot.

30. Dezember. Auch Kultur D 7 ausgestorben, die Kulturen A 8 und D 1 bis D 6 gut.

10. Januar 1919. Von jedem der 8 Zweige von D 1 (nach Conjugation am 20. Dezember) und von jedem der 5 Zweige von A 8 (nach Parthenogenese am 7. Januar bzw. 9. Januar) wird eine Massenkultur in 37° versetzt.

20. Januar. Sämtliche Kulturen in 37° ausgestorben.

Abzweigung VIII.

28. November. Parthenogenese (auch durch Präparat nachgewiesen).

30. November. Alle drei nach der Parthenogenese angelegten Linien tot.

Wurden nach einer Conjugation einzelne Pärchen isoliert und die aus den Exconjuganten durch je zweimalige Teilung hervorgegangenen ersten 8 Individuen getrennt und jedes für sich unter gleichen Bedingungen weitergezogen, so ergab sich in einer ganzen Anzahl von Fällen, daß zwischen den 8 auf diese Weise aus einem Pärchen erhaltenen Zweigkulturen nicht unbedeutende Unterschiede bestanden, ganz wie zwischen den zuvor geschilderten aus den beiden Exconjuganten einer Paarung erhaltenen Stämmen. Diese Unterschiede traten aber nicht nur zwischen den Kulturen auf, die auf den einen oder anderen Exconjuganten zurückgingen, sondern in gleicher Weise unterschieden sich auch gelegentlich die aus einem und demselben Exconjuganten hervorgegangenen, durch Trennung nach seiner ersten oder zweiten Teilung erhaltenen Zweigkulturen unter sich. So wurden bei Zweig 4 der am 23. November 1918 aus 31° in Zimmertemperatur versetzten Kulturen von h nach Eintritt von Conjugation am 28. November in den aus einem Conjugationspärchen erhaltenen

8 Zweigen bei 6 bei einer Prüfung am 6. Dezember wieder das normale Verhalten des Stammes h vorgefunden, während die letzten beiden Zweige die durch die Wärmekultur erzielte Umstimmung der Reaktionsnorm noch unverändert aufwiesen. Entsprechend sehen wir bei Abzweigung 7 der gleichen Kultur, bei der es am 2. Dezember zu Conjugationen kam, in einem Falle bei 6 von den 8 aus den beiden ersten Exconjugantenteilungen gezogenen Parallelkulturen ein Erhaltenbleiben der Dauermodifikation, bei den beiden anderen ihre vollständige Rückbildung. Bei einem zweiten Conjugationspärchen dagegen hält sich die Dauermodifikation nur bei einem der in gleicher Weise angelegten 8 Parallelzuchten, während sie bei den 7 anderen im Anschluß an die Conjugation vollständig verloren gegangen ist.

In all diesen Fällen, bei denen ja nach der ganzen Anlage der Kulturen je 4 der 8 Parallelzuchten auf jeden der beiden Exconjuganten zurückgingen, bestanden somit die beobachteten Unterschiede nicht nur, wie in dem von uns zuerst geschilderten Beispiele, zwischen Nachkommen der beiden Exconjuganten, sondern in gleicher Weise auch zwischen den auf ein und denselben Exconjuganten zurückzuführenden und erst durch Trennung nach den ersten beiden Teilungen isolierten verschiedenen Abkömmlingen. Ganz klar wird dies durch weitere bei dem schon erwähnten Zweig 4 von Stamm h angestellte Beobachtungen: Bei einem der aus der Conjugationsepidemie vom 28. November isolierten Pärchen (A) wurden am 29. die beiden Exconjuganten getrennt und späterhin die aus jedem von ihnen durch die ersten zwei Teilungen entstandenen je 4 Tochterindividuen gesondert weitergeführt. Innerhalb jeder dieser beiden Gruppen von je 4 Zweigkulturen fanden sich nun Unterschiede in der Reaktionsnorm, und zwar war — wie unsere Figur 4 lehrt — bei den Nachkommen beider Exconjuganten bei je zweien der je 4 gezogenen Parallelstämme die Dauermodifikation nach der Conjugation zurückgebildet worden, während die beiden anderen Zweigkulturen jedes Exconjuganten noch die abgeänderte Reaktionsnorm aufwiesen.

Ganz ähnlich wie das Verhalten nach der Conjugation sind aber auch bemerkenswerterweise die im Zusammenhange mit der Parthenogenesis zu erhebenden Feststellungen. Schon bei den Beobachtungen im Mai 1918 war es aufgefallen, daß das Verhalten verschiedener Zweige, die unter anscheinend gleichen Bedingungen nach mehrjährigem Aufenthalte bei 31° in Zimmertemperatur überführt worden

waren, nach einer Parthenogenesis recht verschieden sein konnte. Während bei einem Teile schon nach der ersten Parthenogenesis die Dauermodifikation vollständig zurückgebildet worden war, blieb sie bei anderen Zweigen unverändert erhalten und wurde erst durch die zweite, zum Teil sogar erst durch die dritte Parthenogenesis beseitigt. Nach den auffälligen im Zusammenhange mit der Conjugation erhobenen Befunden mußte natürlich auch das Verhalten der Paramäcien nach einer Parthenogenesis wesentlich genauer geprüft werden, und es ergab sich dabei, daß in gleicher Weise wie bei den Abkömmlingen der Exconjuganten auch bei den nach den ersten beiden auf die Parthenogenesis folgenden Teilungen gebildeten Paramäcien die gleichen Unterschiede nachzuweisen sind. So wurden bei Abzweigung 5 am 27. Dezember die ersten vier nach bzw. im Verlauf einer Parthenogenesis gebildeten Infusorien isoliert und daraus 3 Parallelzuchten angelegt, während das vierte Individuum zum sicheren Nachweise der eben erfolgten Parthenogenesis fixiert und gefärbt werden mußte. Ganz ähnlich wie bei den Exconjugantenzuchten zeigte sich nun (vgl. Fig. 4), daß nur bei einer der Parallelkulturen die Umstimmung der Reaktionsnorm nach der Parthenogenesis geschwunden war, während die beiden anderen die Dauermodifikation unverändert beibehielten. Ganz entsprechende Beobachtungen konnten, wie unsere Figur lehrt, auch bei anderen Abzweigungen gemacht werden.

Recht interessant ist nun aber auch das weitere Verhalten solcher nach Parthenogenesis oder Conjugation zum Teil beibehaltenen, zum Teil zurückgebildeten Umstimmungen der Reaktionsnorm, wie wir es gleichfalls aus Protokoll 8 und dem in Fig. 4 gegebenen Übersichtsbilde entnehmen können. Während der vegetativen Vermehrungsperiode erfolgen — wie wir schon erwähnt hatten — keinerlei Änderungen dieser Umstimmungen. Die aus einem Exconjuganten oder nach einer Parthenogenesis erhaltenen Parallelkulturen weisen also auch weiterhin die normale bzw. die abgeänderte Reaktionsnorm auf. Bei der nächsten Conjugation oder Parthenogenesis aber ist wiederum das gleiche differente Verhalten nachzuweisen. Wiederum geht bei einem Teile, und zwar offenbar bei dem größten Teile, der in gleicher Weise wie zuvor angelegten Parallelzuchten die Dauermodifikation verloren, bei einigen Stämmen dagegen kann sie auch jetzt unverändert erhalten bleiben.

Besonders bemerkenswert aber ist der Umstand, daß in zwei Fällen bei Zweigzuchten, die schon nach der ersten Parthenogenesis wieder die normale Reaktionsnorm erreicht hatten, bei der darauf



folgenden in einzelnen der nach der Parthenogenesis angelegten vier Parallelkulturen wieder die abgeänderte Reaktionsnorm, die alte Dauermodifikation, zum Vorschein kam.

Ganz allgemein waren und blieben die durch die jahrelange Wärmekultur hervorgerufenen Umstimmungen der Reaktionsnorm erst nach der dritten oder vierten Parthenogenesis oder Conjugation verloren. —

Die Rückbildung dieser Dauermodifikationen enthüllt uns somit wesentlich kompliziertere Vorgänge, als es zuerst den Anschein haben konnte. Gerade damit erlaubt sie uns aber, die Analyse des Zustandekommens und Schwindens dieser Gruppe von Variationserscheinungen bei unseren Paramäcien wesentlich zu vertiefen:

Bei den unter der Einwirkung von Calciumverbindungen entstandenen Veränderungen hatten wir aus ihrem Erhaltenbleiben durch mehrere Parthenogenesen und gelegentlich auch durch eine Conjugation hindurch und umgekehrt aus dem Schwinden nach sehr langer vegetativer Vermehrung <sup>1)</sup>, sowie aus der Beschleunigung dieser Rückbildung durch eine Häufung von Parthenogenesen oder durch Conjugation den Schluß ziehen können, daß die Umstimmung der Reaktionsnorm, die Dauermodifikation, primär auf Veränderungen des Plasmas beruhen mußte. Bei den nach sehr langer Einwirkung höherer Temperatur entstandenen Dauermodifikationen dagegen sehen wir nun im wesentlichen das umgekehrte Verhalten: während der vegetativen Vermehrungsperiode erfolgt überhaupt keine Rückbildung der Dauermodifikationen, sondern die Regulation zur Norm tritt ausschließlich im unmittelbaren Zusammenhange mit den geschlechtlichen Vorgängen auf. Und während bei der Rückbildung der auf plasmatischen Veränderungen beruhenden Dauermodifikationen die Conjugation einen unvergleichlich stärkeren Einfluß ausübte als die Parthenogenesis, ist bei den in diesem Abschnitte beschriebenen Dauermodifikationen die Wirkung von Parthenogenesis und Conjugation in jeder Hinsicht die gleiche. Diese Wirkung kann daher hier nicht, wie bei den Calcium-Dauermodifikationen, eine nur quantitative Verstärkung der auch schon im vegetativen Leben sich vollziehenden Umsätze und Reinigungsprozesse darstellen, sondern es muß sich hierbei um direkte, spezifischere Veränderungen handeln, die beide geschlechtlichen Vorgänge in gleicher Weise mit sich bringen.

---

<sup>1)</sup> Und zwar gerade auch in der zwischen zwei Parthenogenesen liegenden rein vegetativen Periode!

Nun hatten wir aber gesehen, daß es bei Conjugation sowohl wie bei Parthenogenesis zu einer im Prinzip in gleicher Weise erfolgenden Neubildung des Macronucleus kommt, während der Micronucleus wohl bei der Conjugation, nicht aber bei der Parthenogenesis, wesentlich umgestaltet wird. Da nun Parthenogenesis und Conjugation auf die durch die Temperatureinwirkung entstandenen Dauermodifikationen in jeder Hinsicht den gleichen Einfluß ausübten, so können wir sagen: Veränderungen des Micronucleus können diesen Umstimmungen nicht zugrunde liegen, da eine Rückbildung sonst wohl im Zusammenhange mit einer Conjugation, nicht aber nach einer Parthenogenesis zu erwarten wäre.

Und auch Umstimmungen des Plasmas können für diese Dauermodifikationen nicht in erster Linie bestimmend sein, da ja sonst nach den Erfahrungen an den durch Calciumeinwirkungen hervorgerufenen Dauermodifikationen ein quantitativer Unterschied in der Wirkung von Conjugation und Parthenogenesis erwartet werden müßte, der aber, wie wir sahen, vollständig fehlte. Auch wäre bei rein plasmatischer Bedingtheit dieser Veränderungen die enge Verknüpfung der Rückbildung mit den geschlechtlichen Vorgängen und ihr vollständiges Fehlen während der vegetativen Vermehrungsperiode kaum verständlich.

Somit bleibt als wesentlichster Sitz dieser Umstimmungen nur der Macronucleus übrig. Damit stimmt es aufs beste überein, daß die Dauermodifikation während der vegetativen Vermehrungsperiode unverändert erhalten bleibt, wird doch der Macronucleus bei der Teilung der Paramäcien stets mit geteilt; damit wird aber auch das Schwinden nach Parthenogenesis und Conjugation und auch die durchaus gleichartige Wirkung beider geschlechtlicher Vorgänge ohne weiteres verständlich, wird doch bei beiden Prozessen der alte Macronucleus zerstört und ein neuer gebildet.

Neben solchen Veränderungen des Macronucleus muß aber — sei es erst durch sie, sei es auch direkt durch die jahrelange Zucht bei 31° bedingt — weiterhin auch eine Umstimmung des Protoplasmas bestehen, die sich dann bei jeder Neubildung des Macronucleus mitbeeinflussend geltend macht. Dies gibt uns auch eine Erklärung für das eigenartige Verhalten verschiedener, aus Exconjuganten und nach Parthenogenesis getrennt weiter geführter Zweigzuchten. Die Situation ist somit folgende:

Unter der Einwirkung höherer Temperatur ist ein veränderter Macronucleus ausgebildet worden. Solange er den Infusorienleib beherrscht, sehen wir eine veränderte Reaktionsnorm. Da seine

Elimination während des vegetativen Lebens nicht möglich ist, kam es bei unseren Versuchsreihen während des vegetativen Lebens auch niemals zu einer Rückbildung der beobachteten Umstimmungen. Bei Parthenogenesis und Conjugation wird der veränderte Macronucleus beseitigt, ein neuer vom Micronucleus aus gebildet. Der Micronucleus und seine Potenz zur Macronucleusbildung sind aber durch den vorangegangenen Aufenthalt bei höherer Temperatur nicht verändert worden. Es wäre demnach ganz allgemein bei diesen Prozessen die Neubildung eines normalen Macronucleus und damit die Rückkehr zur normalen Reaktionsnorm zu erwarten, wie wir sie in der Tat in den meisten Fällen, besonders wenn die vorangegangene Temperaturbeeinflussung nicht allzu lange ausgedehnt worden war, bei der Versetzung in die normalen Temperaturbedingungen beobachten konnten. Durch die langdauernde Wärme einwirkung, vielleicht auch durch die langdauernde Herrschaft eines abgeänderten Macronucleus, ist aber auch das Plasma verändert <sup>1)</sup> worden und unter der Einwirkung dieses abgeänderten Plasmas wird in manchen Fällen auch die Bildung des neuen Macronucleus in die gleichen Bahnen gelenkt, wie bei der Entstehung der Dauermodifikation. So erklärte es sich ohne weiteres, daß die Abkömmlinge ein und desselben Exconjuganten unter sich verschieden sein können, zum Teil die Dauermodifikation beibehalten, zum Teil zur Norm zurückschlagen. Denn gerade an diesem ihrem Verhalten ist unzweideutig zu erkennen, daß die Umstimmung eben auf Änderungen des Macronucleus beruhen muß: sämtliche Abkömmlinge des gleichen Exconjuganten und ebenso sämtliche aus einer Parthenogenesis hervorgegangenen Individuen besitzen ja den gleichen Micronucleus und das gleiche Protoplasma, wohl aber kommt es bei den ersten auf die Conjugation folgenden Teilungen und ebenso bei den ersten Teilungen der Parthenogenesis zur gesonderten Neubildung des Macronucleus in jedem Abkömmling bzw. zu einer Verteilung gesondert neugebildeter Macronucleusanlagen.

Wenn somit gerade das eigenartige differente Verhalten verschiedener Exconjugantenabkömmlinge die Zurückführung dieser Unterschiede und damit auch der durch die Wärme erzielten Ver-

---

<sup>1)</sup> Noch einfacher ist vielleicht die natürlich ebenso berechnigte Vorstellung, daß primär die Veränderung des Protoplasmas hervorgerufen wurde, die dann erst schon in der Wärme wie auch nach Versetzung in mittlere Temperatur stets die abweichende Macronucleusbildung bedingte. — Die Veränderung des Plasma wird auch durch die auf S. 109 und 110 (Anmerkung) in Protokoll 8 wiedergegebenen Feststellungen besonders dargetan.

änderungen vor allem auf den Macronucleus für diese Gruppe von Dauermodifikationen unabweisbar macht, so zwingt es andererseits eben auch zur Annahme einer sich daneben lange erhaltenden Umstimmung des Plasmas, die besonders in der ersten Zeit nach Versetzung in normale Temperaturbedingungen die unveränderte Tendenz des Micronucleus zur Macronucleusbildung in von der Norm abweichende Bahnen lenkt. Sie erklärt uns das Erhaltenbleiben der Dauermodifikation nach einem Teile der Parthenogenesen und Conjugationen wie auch bei einem Teile der Abkömmlinge der Exconjuganten des gleichen Conjugationspärchens oder der durch eine Parthenogenese hindurchgegangenen Individuen, während bei einem anderen Teile eben die unveränderte Macronucleusbildungspotenz des Micronucleus in normaler Weise zur Geltung kommt. Sie erklärt uns weiterhin das Wiederauftreten der Umstimmungen bei manchen bereits zur Norm zurückgekehrten Zweigen unter normalen Kulturbedingungen im Anschluß an eine weitere Parthenogenese oder Conjugation, kann sich doch eben eine solche plasmatische Veränderung längere Zeit erhalten und dann die neue Macronucleusbildung entsprechend beeinflussen. Da aber das Erhaltenbleiben solcher plasmatischer Umstimmungen eben doch zeitlich begrenzt ist, so sehen wir unter den normalen Zuchtbedingungen ein immerweiteres Zurücktreten der abgeänderten Macronucleusbildung, bis schließlich alle Abzweigungen nach jeder Conjugation und jeder Parthenogenese das ursprüngliche normale Verhalten zeigen und die Dauermodifikation damit endgültig zurückgebildet ist.

In der unter der langdauernden Einwirkung von höheren Temperaturen entstandenen Dauermodifikation des Stammes h haben wir also eine weitere wesentlich anders als die zuvor analysierten Umstimmungen zu wertende Veränderung der Reaktionsnorm kennen gelernt, eine Dauermodifikation, die in erster Linie eben auf Veränderungen des Macronucleus, daneben auf eine derartige Veränderungen begünstigende Umstimmung des Plasmas zurückgeführt werden muß, ihre Erklärung also in den spezifischen Struktur- und Entwicklungsbedingungen der Infusorien findet.

Die an dieser Kategorie von Veränderungen erhobenen Feststellungen erscheinen aber darüber hinaus für die Beurteilung des Verhaltens und der Erbliehkeitsverhältnisse der Infusorien von großer Bedeutung, zeigen sie uns doch, daß die unveränderte Macronucleusbildungspotenz des Micronucleus je nach der Beschaffenheit der äußeren Faktoren und des Plasmas in wesentlich verschiedener Weise realisiert werden kann.

Was unter den einseitig abgeänderten Außenbedingungen unserer Wärmeversuche besonders klar zur Geltung kam, dürfte in schwachem Grade auch unter den bei den üblichen Kulturbedingungen nicht ganz ausschaltbaren Schwankungen der äußeren Faktoren wirksam werden: Die Potenz des Micronucleus zur Macronucleusbildung scheint zwar innerhalb gewisser Grenzen streng erblich fixiert zu sein, wie sie sich aber realisiert, wie beschaffen der ausgebildete Macronucleus dann ist, hängt nicht unwesentlich auch von Faktoren des Plasmas und der Außenwelt ab. Da aber weiterhin manche Veränderungen des Macronucleus sich lange Zeit, meist bis zum nächsten geschlechtlichen Prozeß, konstant erhalten, so kann durch eine solche abgeänderte Macronucleusbildung, durch eine veränderte Realisierung der gleichen erblichen Potenz, eine erbliche Umstimmung, die Aufspaltung eines Klonen, leicht vorgetäuscht werden. Dies gilt in erster Linie für Indikatoren, die von der Beschaffenheit des Macronucleus stark abhängig sind, also in erster Linie für die gerade besonders gern herangezogenen Bestimmungen der Infusoriengröße sowie der Teilungsrates. So erklären sich die von mir schon 1913 erwähnten Verschiebungen der Größenvariationskurven nach einer Conjugation. So dürften dann auch manche angeblichen Feststellungen einer „erblichen“ Umstimmung, eines erblichen Aufspaltens von Individuallinien von Infusorien, wie sie z. B. von CALKINS und GREGORY (1913) gegeben worden sind, eine einfache Deutung finden, in gleicher Weise aber auch die Beobachtungen von JENNINGS (1911) und mir selbst (1913a) über Unterschiede in dem Verhalten der aus den beiden Exconjuganten einer Paarung erhaltenen Zuchten; weiterhin endlich auch die Schwankungen in der Durchschnittsgröße eines Klonen bei verschiedenen über lange Zeiten hinweg ausgeführten Messungen (soweit sie nicht auf Messungen in verschiedenen Entwicklungsstadien beruhen, wie dies neuerdings ERDMANN dargetan hat), vielleicht auch das von ERDMANN im Zusammenhang mit Parthenogenesis nachgewiesene „Aufspalten“ eines Klonen, Angaben, die wir weiterhin noch eingehender besprechen werden.

Die Beobachtungen der durch jahrelange Einwirkung verschiedener Temperaturen auf den gleichen Klon erzielten Veränderungen der Reaktionsnorm lehrten uns somit weitere wichtige Beispiele von Dauermodifikationen kennen und vertieften unseren Einblick in das Wesen, Zustandekommen und Schwinden von Dauermodifikationen — für die Frage der erblichen Umstimmung einer Individuallinie, für die Fragen der Artbildung jedoch sind auch sie ohne positive Bedeutung.

Denn in dieser Hinsicht müssen wir unsere Ergebnisse nochmals dahin zusammenfassen, daß auch die jahrelange Einwirkung sehr verschiedener Temperaturen auf verschiedene Abzweigungen der gleichen Individuallinie nur Modifikationen und Dauermodifikationen, aber keine wirklich erblichen Unterschiede, keine dauernde Aufspaltung eines Klones hervorzurufen vermochte.

### 5. Arsenversuche.

Parallel mit den eben beschriebenen Temperatureinwirkungsversuchen wurden endlich auch ausgedehnte Beobachtungen über den Einfluß lange einwirkender untertödlicher Konzentrationen von arseniger Säure angestellt. Ein gewisses Material hierfür bieten schon die bei den Gewöhnungs- und Dauermodifikationsexperimenten genauer geschilderten Kulturen (vgl. Tab. 3—7 u. Protok. 1—7). Doch wurden auch besondere Versuchsserien zur Prüfung dieser Frage angesetzt; so zog ich Abzweigungen des Stammes A nebeneinander von Juni 1911 bis September 1912 zum Teil in gewöhnlichem Salatwasser, zum Teil in 0,3proz. arseniger Säure in Salatwasser; eine Abzweigung von Stamm  $\alpha$  von Februar 1911 bis März 1912 gleichfalls in 0,3proz. arseniger Säure, eine andere Abzweigung von März 1913 bis März 1914 in 0,5proz., und endlich eine Abzweigung des Stammes h von Juni 1915 bis Juni 1918 in 0,3proz. arseniger Säure. Auch bei diesen Versuchen wurden mehrmals leichte Steigerungen oder Herabsetzungen der Widerstandsfähigkeit gegenüber dem Gifte beobachtet, die aber, mit einer erst im folgenden Abschnitt zu schildernden, da offenbar anders zu wertenden Ausnahme, schon nach wenigen Wochen, im Höchsthalle nach 3 Monaten, wieder vollständig geschwunden waren, somit wiederum Dauermodifikationen darstellten.

### D. Mutationen.

Alle Versuche, durch Temperatur- und Gifteinwirkungen während des vegetativen Lebens meiner Paramäcienklone dauernde erbliche Veränderungen innerhalb einer Individuallinie zu erzielen, hatten somit zu keinem positiven Ergebnisse geführt. Sämtliche dabei beobachteten Gewöhnungen und Umstimmungen der Reaktionsnorm erwiesen sich als Modifikationen oder Dauermodifikationen, kamen also für genotypische Umwandlungen und damit auch für die Fragen der Artumbildung nicht in Betracht.

Nun traten aber im Laufe der Jahre unter den zahlreichen geführten Individuallinien auch einzelne Veränderungen auf, die

sich in ihrem Verhalten von allen zuvor beschriebenen wesentlich dadurch unterschieden, daß sie nicht wieder zur Stammform zurückschlugen, sondern dauernd bestehen blieben. Eine solche Veränderung haben wir soeben bei den Beobachtungen an lange Zeit in schwachen Lösungen von arseniger Säure gezüchteten Kulturen von  $\alpha$  erwähnt: In einer Zweigkultur von  $\alpha$ , die von März 1913 bis 1914 in einer 0,5proz. Lösung von arseniger Säure in Salatwasser gehalten worden war, war nach Zurückversetzung in das normale, arsenfreie Kulturmedium eine nicht unbeträchtliche Herabsetzung der Arsenresistenz festzustellen. Während die maxima tolerata-Dosis für diesen Stamm — wie wir gesehen hatten — 0,9 Proz. unserer Lösung betrug, wurden die ein Jahr lang in 0,5proz. arseniger Säurelösung vorgezüchteten Paramäcien bereits durch eine 0,75prozentige Lösung restlos abgetötet. Ende März 1914 conjugierte ein Teil dieser veränderten Zucht, — die aus Exconjuganten hiervon angelegten Kulturen zeigten aber gleichfalls die Herabsetzung der Widerstandsfähigkeit gegenüber arseniger Säure. Anfang Juni 1914 konnte in einer dieser Exconjugantenzuchten abermals Conjugation ausgelöst werden, aber auch jetzt wurden die Nachkömmlinge isolierter Conjugationspärchen, wie Prüfungen am 24. Juni, 10. Juli und 15. August 1914 ergaben, restlos durch eine 0,75proz. Lösung von arseniger Säure abgetötet.

In diesem Falle hielt sich somit eine innerhalb eines Klones aufgetretene Änderung der Reaktionsnorm nicht nur über 5 Monate bei vegetativer Vermehrung, sondern sie trotzte auch zwei aufeinanderfolgenden Conjugationen. Eine ähnliche Beobachtung konnte aber, gleichfalls an Abkömmlingen des Stammes  $\alpha$ , schon im Zusammenhange mit den früher geschilderten Selektionsversuchen gemacht werden. Wie unsere Tabelle 4 (Seite 26) zeigt, war in der nach zahlreichen Selektionsperioden abgezweigten Zucht  $\alpha$  7a die Widerstandsfähigkeit gegenüber arseniger Säure nach Zurückversetzung in arsenfreies Salatwasser gleichfalls merklich herabgesetzt. Statt erst, wie alle anderen Zweige des Stammes  $\alpha$ , durch eine 1prozentige Lösung, wurde Zweig  $\alpha$  7a bereits durch eine 0,8proz. Lösung meiner arsenigen Säure stets abgetötet. In Tabelle 4 ist dies nur für die 1. sowie 6 Wochen nach Zurückversetzung in das normale Kulturmedium angestellten Prüfungen verzeichnet; die gleiche Umstimmung der Reaktionsnorm fand sich aber auch noch am 8. Juni sowie 10. Oktober 1912, also noch über ein Jahr bei Weiterzucht in normaler Kulturlösung, vor allem aber war auch nach einer Mitte Mai 1912 aufgetretenen Conjugation bei den aus

den Exconjuganten erhaltenen Zuchten keine Rückkehr zur Norm nachzuweisen.

Auf diese Feststellung sind wir zuvor bei den Selektionsversuchen nicht näher eingegangen, da die dauernde Abänderung der Reaktionsnorm innerhalb des Klonen  $\alpha$  ja nicht in der Richtung der auf eine Steigerung der Widerstandsfähigkeit hinzielenden Selektionen lag, sondern ihnen gerade entgegengesetzt war. Sie kann also nicht auf eine Selektionswirkung, sondern nur auf eine direkte Umwandlung, sei es unmittelbar unter der Einwirkung der schwachen arsenigen Säure, sei es aus anderen unbekanntem Ursachen, zurückgeführt werden. Im Hinblick auf das von anderen Untersuchern in jüngster Zeit mehrfach behauptete Aufspalten von Klonen durch wiederholte Selektionen erscheint diese Beobachtung des Auftretens einer offenbar erblichen Abänderung im Verlaufe meiner Selektionsversuche von besonderer Bedeutung: Denn in unserem Falle ist diese Variante ja zweifellos eben nicht auf eine direkte Selektionswirkung zurückführbar, ein Schluß, der sicher leicht vorgetäuscht worden wäre, wenn wir die umgekehrte Abweichung von der Reaktionsnorm, eine Steigerung der Widerstandsfähigkeit statt der im Falle von  $\alpha$  7a beobachteten Herabsetzung nachgewiesen hätten.

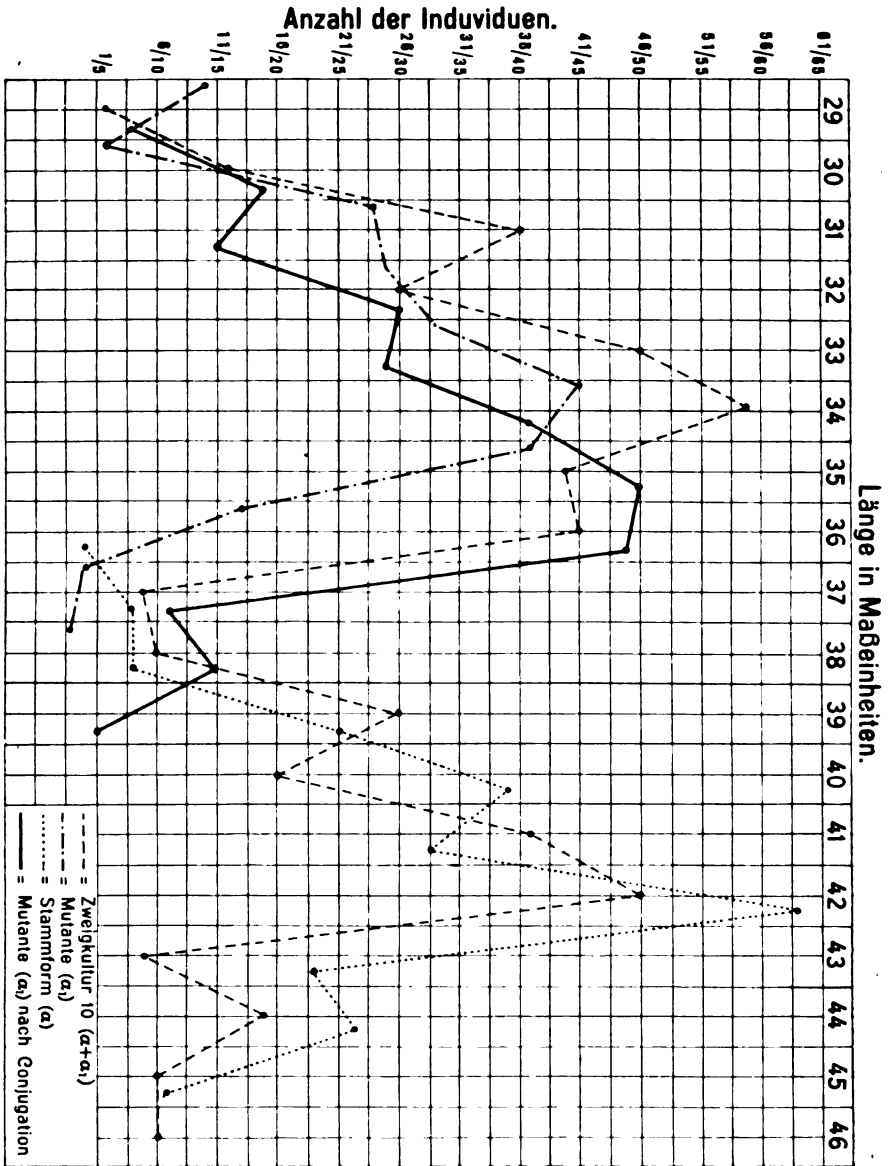
Beide soeben von uns erwähnten, unter der langdauernden oder häufig wiederholten Einwirkung von arseniger Säure entstandenen Umstimmungen der Reaktionsnorm blieben, wie wir gesehen hatten, im Gegensatz zu den früher beschriebenen, als Dauermodifikationen erkannten Arsenfestigungen meiner Paramäcien nicht nur monatelang bei vegetativer Vermehrung und den dabei „normaler“weise auftretenden Parthenogenesen, sondern auch durch eine, ja sogar durch zwei Conjugationsperioden hindurch unverändert erhalten. In diesen Fällen dürfte es sich somit um prinzipiell anders zu wertende, wirklich erbliche Änderungen der Reaktionsnorm innerhalb eines Klonen handeln.

Wenn aber gegen eine solche Anschauung im Hinblick auf die erst später im Laufe meiner Untersuchungen festgestellten, sich lange erhaltenden Dauermodifikationen unter der Einwirkung von Calciumverbindungen und differenten Temperaturen vielleicht noch gewisse Zweifel statthaft sind und die Beobachtungen vielleicht etwas zu früh abgebrochen erscheinen können, so dürften derartige Einwände gegenüber einer weiteren im Zusammenhang mit Wärmeversuchen nachgewiesenen dauernden Umwandlung eines Klonen meiner Paramäcien kaum möglich sein.

In einer Zweigkultur (10) des Klonen  $\alpha$  in Salatwasser, die in



den ersten Tagen des Mai 1911 in 31° versetzt und bei dieser Temperatur weitergeführt wurde, fanden sich bei einer am 8. Juli 1911



vorgenommenen Musterung eine ungewöhnlich große Anzahl sehr kleiner Paramécien. Der Befund erschien gegenüber dem Verhalten aller anderen Kulturen von α bei 31° so augenfällig, daß ich genauere

Messungen der Infusorien dieser Zucht vornahm und zugleich mehrere der anscheinend kleinsten Individuen isolierte und getrennt weiterführte.

Die erste, am 14. Juli unter allen in der Einleitung erwähnten Vorsichtsmaßregeln durchgeführte, Messung ergab nun statt der üblichen eingipfligen eine ausgesprochen zweigipflige Variationskurve der Längen (Fig. 5)<sup>1)</sup>. Das gleiche Bild brachten auch weitere Messungen, die am Material vom 5. August, 30. September und 24. Oktober 1911 vorgenommen wurden. Eine entsprechende Prüfung der isolierten kleinen Individuen zeigte dagegen sowohl bei der ersten Messung am 19. Juli wie auch bei allen späteren eine gewöhnliche eingipflige Variationskurve, die ungefähr der ersten Hälfte der von der Ausgangskultur aufgenommenen zweigipfligen Kurve entsprach (vgl. Fig. 5), und umgekehrt erhielt ich bei Messung der Abkömmlinge am 14. Juli weiterhin isolierter größter Paramäcien aus der erwähnten Zweigkultur 10 von  $\alpha$  eine der zweiten Hälfte der für diese Zucht zuvor festgestellten zweigipfligen Kurve entsprechende eingipflige Variationskurve, eine Kurve, die aber weiterhin mit der normalen Längenvariation von  $\alpha$  übereinstimmte, wie wir sie in zahlreichen Messungen festgelegt hatten (s. Fig. 5 u. 6).

Die Kultur 10 von  $\alpha$  enthielt somit nach 9 wöchiger Zucht in 31° neben der Normalform  $\alpha$  auch wesentlich kleinere Paramäcien, die wir als  $\alpha 1$  bezeichnen wollen. Wie waren sie entstanden? Wie zu werten?

Der zunächst liegende Einwand, es könnte sich um eine Ver-

<sup>1)</sup> Bei der Wiedergabe dieser Figur in meiner vorläufigen Mitteilung (1913) ist versehentlich nicht angegeben worden, daß es sich bei der Einteilung der Anzahl der Infusorien jeder Größeneinheit nicht um Einzelindividuen, sondern um (13) Klassen von je 5 Individuen handelt. Da auch in der vorliegenden Veröffentlichung aus technischen Gründen die Millimeteerteilung der Originale nicht mit reproduziert werden konnte und die genaue Anzahl der Individuen jeder Längensklasse daher nur mit Mühe aus den Kurven abgelesen werden kann, so sei noch darauf hingewiesen, daß bei der ersten Prüfung der Kultur 10 (vom 14. Juli 1911) 462, später dagegen meist nur 200 Individuen gemessen wurden, so bei allen späteren Messungen von Fig. 7 und bei sämtlichen Prüfungen von Fig. 8 und 9. Die Kurven der Fig. 6, 10, 11 und 12 erfassen dagegen stets die Längen von je 400 Infusorien. Die Messungen waren eben anfänglich, als die Zusammenhänge noch nicht übersehen werden konnten, noch nicht systematisch aufeinander abgestimmt, speziell die ersten auf Fig. 5 wiedergegebenen Ausnahmen, deren Vergleich wegen der verschiedenen Individuenzahl etwas erschwert ist. Es ist aber absichtlich hinterher keine Vereinheitlichung durch entsprechende Umrechnungen vorgenommen worden, sondern die Messungen werden so, wie sie gewonnen sind, wiedergegeben.

unreinigung der Kultur 10, um die Vermischung mit einer anderen Paramäcienrasse handeln, war leicht auszuschalten. Nicht nur machte die befolgte Arbeitsmethode, die ständige Sterilisierung der benutzten Instrumente, Gläser und Nährlösungen und die ganze Aufbewahrungswiese der Kultur 10 eine solche unbeabsichtigte Vermengung höchst

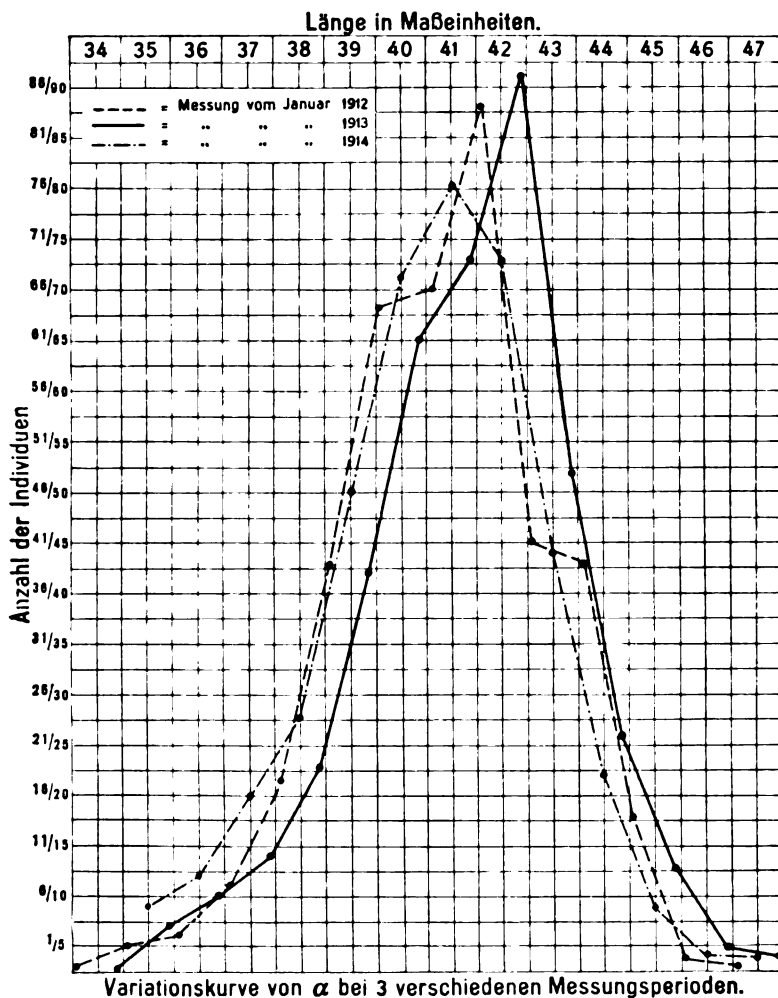


Fig. 6.

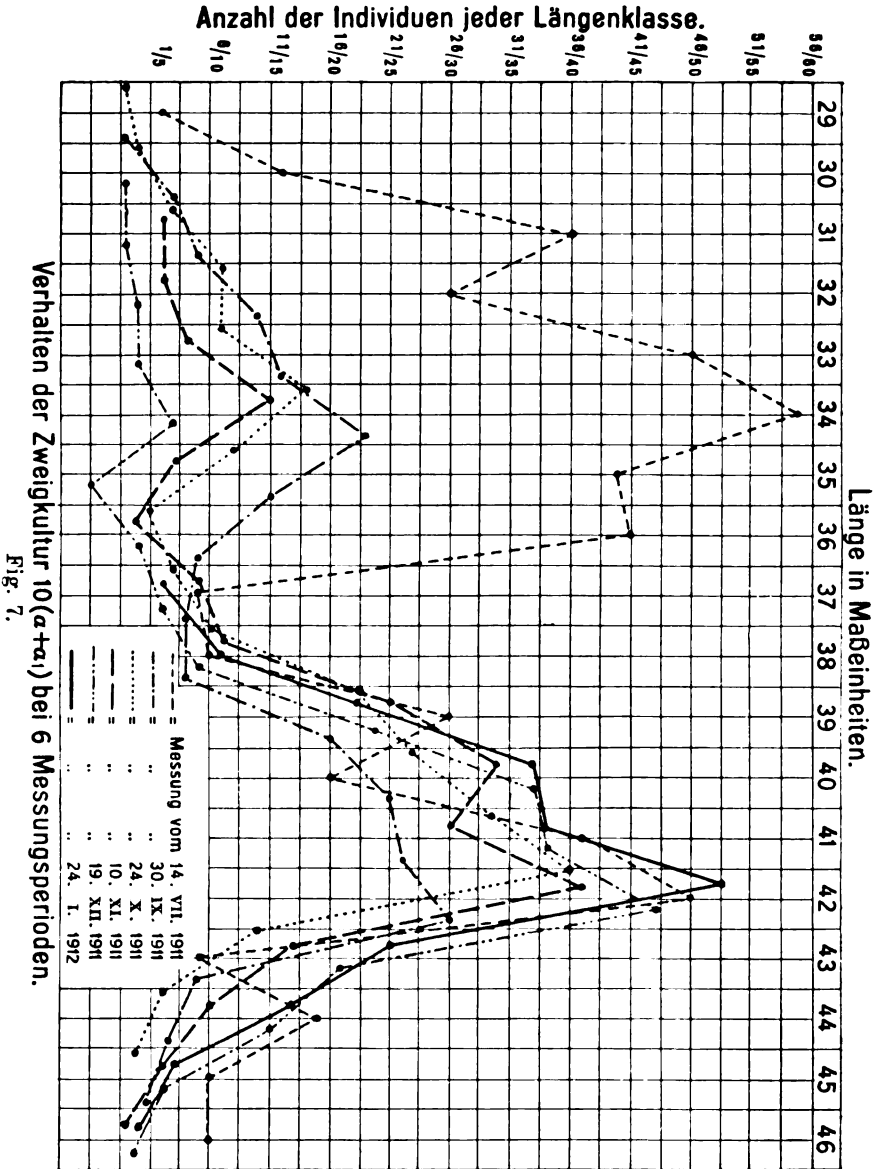
unwahrscheinlich, sondern vor allem wiesen die  $\alpha$ 1-Paramäcien auch Eigenschaften auf, die sie ohne weiteres von sämtlichen Stämmen unterschieden, mit denen ich 1911 arbeitete oder vorher gearbeitet hatte (vgl. die Übersichtstabelle auf S. 19): Sie waren weitaus

die kleinsten von mir je untersuchten Paramäcien des *caudatum*-Kreises, und weiterhin konnten sie allein ohne weiteres in 39° gezüchtet werden, eine Temperatur, bei der, wie wir sahen, alle anderen Stämme rasch eingingen.

War somit die Annahme einer Verunreinigung nicht haltbar, so blieb zunächst zu prüfen, welcher Art diese Änderung der Reaktionsnorm eines Teiles des Klones  $\alpha$  war. Nach den zuvor gemachten Erfahrungen über Dauermodifikationen unter der Einwirkung von arseniger Säure mußte natürlich zunächst daran gedacht werden, daß auch hier, im Falle von  $\alpha 1$ , entsprechend zu wertende Abänderungen vorlagen; doch auch diese Deutung mußte nach dem weiteren Verhalten der  $\alpha 1$ -Paramäcien fallen gelassen werden.

Hätte ich mich auf eine Beobachtung der Mischkultur 10, in der ja die  $\alpha 1$ -Individuen aufgetreten waren, beschränkt, so wäre allerdings ein allmählicher Rückschlag zur Stammform  $\alpha$ , somit eine Deutung von  $\alpha 1$  als Dauermodifikation leicht vorgetäuscht worden. Denn die an Abkömmlingen der Kultur 10 weiterhin am 10. November und 19. Dezember vorgenommenen Prüfungen zeigen uns eine deutliche Verschiebung der Variationskurve, eine Annäherung an das Verhalten des normalen Stammes  $\alpha$ , deren Beginn bereits aus der zuvor wiedergegebenen Messung vom 24. Oktober und deren Abschluß aus der Kurve von 24. Januar 1912 klar zu ersehen ist (vgl. Fig. 7). Auch alle späteren Messungen von Kultur 10 zeigen keinen Unterschied mehr gegenüber dem Verhalten von  $\alpha$ . Dieser „Rückschlag“ zum Ausgangsstamm war aber, wie eine genauere Analyse und vor allem auch eine Prüfung des Verhaltens der isolierten Zuchten von  $\alpha 1$  lehrte, nur ein scheinbarer. In der Kultur 10 bildeten sich die  $\alpha 1$ -Individuen nicht wieder zur  $\alpha$ -Form zurück, sondern sie wurden allmählich von den daneben vorhandenen Paramäcien der Stammform  $\alpha$  überwuchert und starben schließlich ganz aus. So konnten noch am 10. Dezember aus in 39° versetzten Abzweigungen der Kultur 10 einzelne unveränderte  $\alpha 1$ -Individuen erhalten werden, die ja allein bei dieser höheren Temperatur lebensfähig waren und sich nach Zurückversetzung in 31° und weiterer Vermehrung bei allen Messungen eben als typische unveränderte  $\alpha 1$ -Formen erwiesen. Am 20. Januar dagegen war es nicht mehr möglich, in der Zucht 10 noch  $\alpha 1$ -Paramäcien zu finden; sämtliche von Kultur 10 aus 31 in 39° versetzten Zweigzuchten gingen bei dieser Temperatur vollständig ein;  $\alpha 1$  war somit um diese Zeit schon restlos von  $\alpha$  in der Mischkultur verdrängt worden. Das gleiche Ergebnis zeigten auch späterhin aus isolierten Zuchten von  $\alpha 1$  und  $\alpha$  hergestellte und in

31<sup>o</sup> längere Zeit weitergeführte Mischzuchten: stets wurden die  $\alpha 1$ -Paramäcien von  $\alpha$  allmählich verdrängt, erwiesen sich also selbst



unter den Bedingungen, unter denen sie entstanden waren, weniger lebensfähig als die Stammform.

Während somit durch die geringere Lebensfähigkeit der  $\alpha$ -Individuen in der Ausgangskultur 10 leicht eine Deutung der neu entstandenen kleinen *Paramä*cien als Dauermodifikationen von  $\alpha$  vorgetäuscht werden konnte, zeigten die aus isolierten  $\alpha$ -Individuen gewonnenen Zuchten ein wesentlich anderes und klareres Verhalten. Sämtliche im Oktober, November, Dezember 1911, Januar, Februar März 1912 und auch weiterhin bis einschließlich September 1912 vorgenommenen Messungen ergaben eine von  $\alpha$  durchaus abweichende

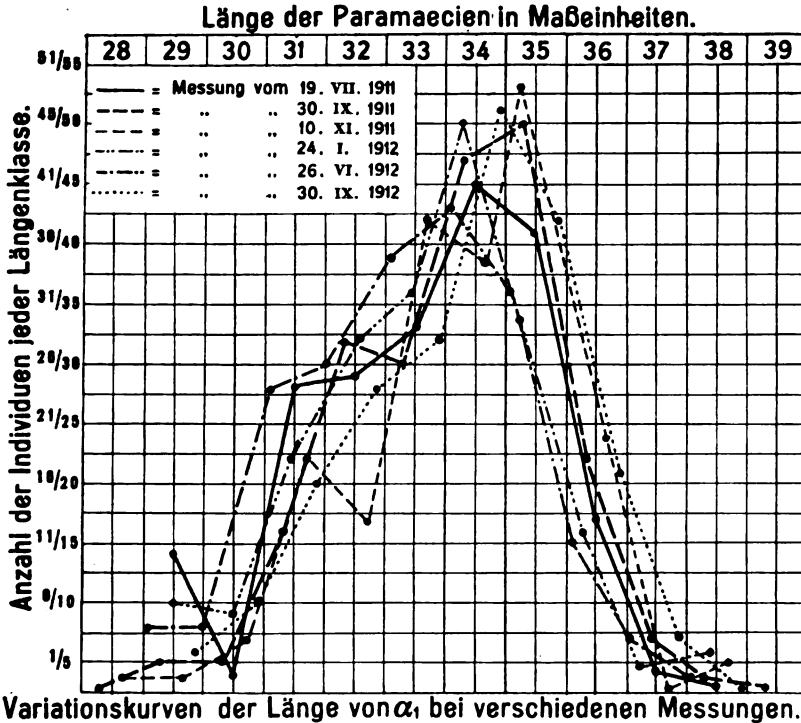


Fig. 8.

und (mit kleinen Schwankungen, wie sie auch sonst bei über lange Zeit fortgeführten Messungen der *Paramä*cium-Größe üblich sind) mit der am 19. Juli 1911 zuerst aufgenommenen Variationskurve gut übereinstimmendes Bild (s. Fig. 8). Während über 14 Monaten verhielt sich die beobachtete Umstimmung der Reaktionsnorm völlig konstant. Wichtiger noch aber war die Feststellung, daß auch sämtliche Versuche, die  $\alpha$ -Individuen durch schroffen Wechsel der Außenbedingungen ganz entsprechend wie die beschriebenen Arsen-Dauermodifikationen zur Rückbildung zu bringen

keinen Erfolg hatten. Die Untersuchungen wurden dadurch wesentlich erleichtert, daß die  $\alpha$ 1-Paramäcien eben nicht nur in ihrer Größe, sondern auch in ihrer Widerstandsfähigkeit gegenüber höheren Temperaturen sowie arseniger Säure sich merklich von dem Verhalten des Ausgangsstammes  $\alpha$  unterschieden. Ihre Lebensfähigkeit bei 39° wurde schon hervorgehoben; gegenüber der arsenigen Säure dagegen waren sie weniger widerstandsfähig als der Ausgangsstamm  $\alpha$ , da sie nicht wie dieser noch eine 0,9proz. Konzentration in Salzwasser vertragen konnten, sondern schon durch eine 0,75proz. Lösung restlos abgetötet wurden.

Aber nicht nur bei Weiterführung unter normalen Kulturbedingungen, bei 31° oder Zimmertemperatur blieb die Umstimmung der Reaktionsnorm unverändert, sie erhielt sich auch bedeutensamerweise nach einer Conjugation bei den aus den Exconjuganten gewonnenen Weiterzuchten. Am 21. März 1912 traten im Verlaufe von Versuchen mit schroffem Wechsel der Ernährungs- und Temperaturbedingungen in einer im allgemeinen bei Zimmertemperatur (17—20°) gehaltenen Zweigkultur von  $\alpha$ 1 zahlreiche Conjugationspäirchen auf. Es wurden ungefähr 100 Päirchen isoliert und mit ihnen sechs verschiedene Kulturen angelegt. Nachdem sich all diese Kulturen reichlich vermehrt hatten, wurde am 8. April 1912 das Verhalten dieser Zuchten geprüft und übereinstimmend fand sich bei sämtlichen aus den Exconjuganten gewonnenen Zweigen eine Längenvariationskurve, die der von  $\alpha$ 1 in den Monaten vor der Conjugation wiederholt aufgenommenen durchaus entsprach (vgl. Fig. 8 u. 9). Auch die Widerstandsfähigkeit gegenüber höherer Temperatur und arseniger Säure war durch die Conjugation nicht verändert worden. Sämtliche sechs aus den Exconjuganten gewonnenen Kulturen vertrugen sowohl im Mai wie auch weiterhin eine Temperatur von 39° und wurden andererseits schon durch eine 0,75proz. Lösung meiner arsenigen Säure stets restlos abgetötet.

Dieses Bestehenbleiben der veränderten Reaktionsnorm bei sehr lange dauernder Weiterzucht unter normalen Außenbedingungen, bei häufigem und schroffem Wechsel der Temperatur und Ernährung und endlich auch nach einer Conjugation unterschied diese innerhalb eines Klones entstandenen Veränderungen durchaus von den bei der Einwirkung von arseniger Säure erhaltenen Dauermodifikationen. Und da Beobachtungen über ein gelegentliches Erhaltenbleiben von Dauermodifikationen auch über eine Conjugation hinweg (wie wir es bei den Calcium- und Wärmeversuchen fanden) damals, im Jahre 1912, noch nicht vorlagen, so wurde die Prüfung der

Größenverhältnisse der  $\alpha 1$ -Kulturen nicht weiter, vor allem nicht über die später erhaltenen beiden weiteren Conjugationsperioden hinaus fortgesetzt, sondern ich beschränkte mich bei der Weiterführung der Beobachtungen auf die leichtere und bequemere Prüfung der Widerstandsfähigkeit gegenüber höheren Temperaturen und arseniger Säure.

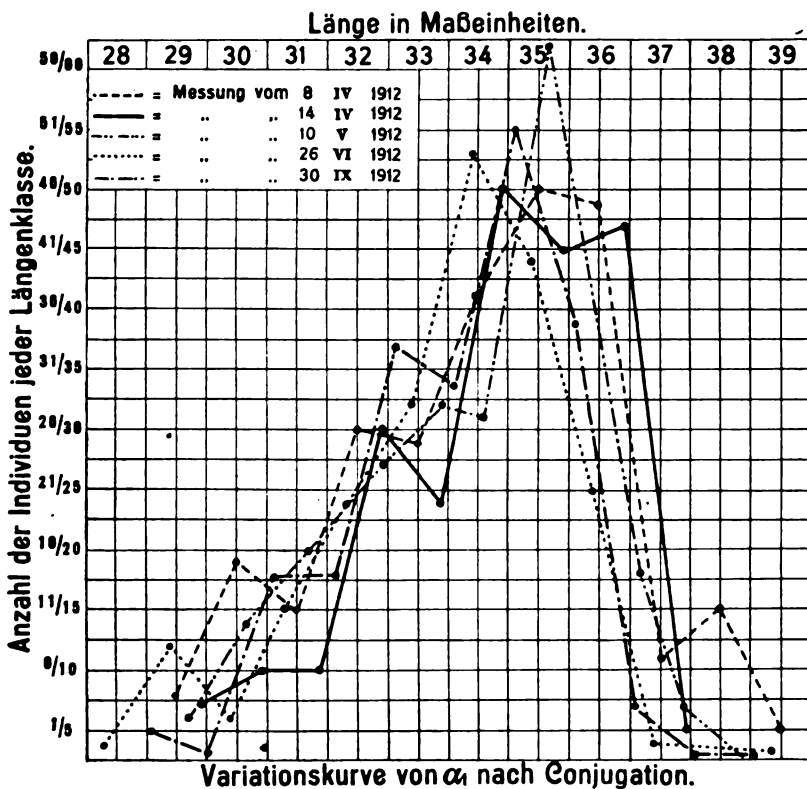


Fig. 9.

Am 17. Mai 1912 kam es abermals zu einer Conjugationsepidemie, in einer der aus den Exconjuganten vom März gewonnenen Zuchten von  $\alpha 1$ . Wiederum wurden Conjugationspärchen isoliert, in drei einzelnen Kulturen weitergeführt und die aus den Exconjuganten entstandenen Zuchten in ihrem Verhalten gegenüber einer Temperatur von  $39^\circ$  sowie gegenüber arseniger Säure geprüft. Und wieder ergaben die Beobachtungen vom 5. Juni, wie auch vom 12. Juli und 29. August das unveränderte Erhaltenbleiben der Reaktionsnorm von  $\alpha 1$ .



Am 17. September kam es in den weitergeführten Kulturen, die also schon zwei Conjugationen in sich durchgemacht hatten, abermals zu einer kleinen Conjugationsepidemie. Am 28. September wurde die Wärmeresistenz von aus isolierten Conjugationspärcchen gewonnenen Zuchten geprüft. Unverändert konnten auch diese Abkömmlinge von  $\alpha 1$  eine Temperatur von  $39^{\circ}$  dauernd vertragen. Die Umstimmung der Reaktionsnorm blieb somit auch durch drei Conjugationsperioden hindurch unverändert erhalten. Leider konnte die Beobachtung von  $\alpha 1$  nicht weiter fortgesetzt werden, da dieser Stamm bei meiner Übersiedelung von München nach Berlin Ende Oktober 1912 durch einen unglücklichen Zufall zugrunde ging. Die vorliegenden Beobachtungen dürften aber wohl genügen, um darzutun, daß es sich bei den  $\alpha 1$ -Individuen um etwas prinzipiell anderes als bei den zuvor geschilderten Dauermodifikationen unter der Einwirkung von chemischen Verbindungen oder von extremen Temperaturen handelt. Wir haben es ja bei  $\alpha 1$  mit Umstimmungen der Reaktionsnorm innerhalb eines Klones zu tun, die nicht nur bei vegetativer Vermehrung unter normalen Bedingungen weit über 1 Jahr unverändert erhalten blieben, sondern die Abänderung trotzte auch häufigem und schroffem Wechsel der Außenbedingungen, Einwirkungen, unter denen im Laufe der 14 monatigen Beobachtungszeit nach den sonst vorliegenden Erfahrungen gering gerechnet 20—25 Parthenogenesis-Perioden zu erwarten waren, und endlich finden wir auch nach drei Conjugationen nicht das geringste Abklingen der Umstimmung. Die Abänderung betraf aber auch nicht nur die Größe, sondern ebenso sehr die Wärme- und Arsenresistenz, Indikatoren, die, wie wir sahen, von etwaigen abnormen Ausbildungen des Macronucleus relativ wenig beeinflußt wurden. Schon aus diesem Grunde wie auch wegen des dauernden Erhaltenbleibens der Umstimmung müssen hier andere Verhältnisse vorliegen, als bei den durch jahrelange Wärmeeinwirkung hervorgerufenen auf Macronucleus- und Plasmaveränderungen beruhenden Dauermodifikationen. Bedenken wir dann ferner, daß die  $\alpha 1$ -Individuen nicht etwa durch langdauernde einseitige Abänderungen der Außenbedingungen, sondern nur bei relativ kurzer Zucht in einer zwar hohen, aber doch noch weit unter der Grenztemperatur für den Ausgangsstamm  $\alpha$  gelegenen Temperatur auftraten, während die sich am längsten erhaltenden Dauermodifikationen bei unseren Calciumversuchen nur nach fast entsprechend langer Einwirkungsdauer der Calciumverbindungen zu

beobachten waren, und auch dann schon nach vergleichsweise wenigen Parthenogenesen abzuklingen anfangen, so ist der Schluß wohl kaum abweisbar, daß wir es bei den  $\alpha 1$ -Individuen nicht mehr mit Dauermodifikationen, sondern mit einer prinzipiell anderen Erscheinung, mit einer wirklich genotypen Veränderung, einer Mutation, zu tun haben. Gänzlich ungeklärt erschienen aber zunächst die Bedingungen ihrer Entstehung

Und ebenso ungeklärt war auch das Zustandekommen der beschriebenen dauernd abweichend reagierenden Formen in den schwachen Konzentrationen von arseniger Säure. Das Auftreten

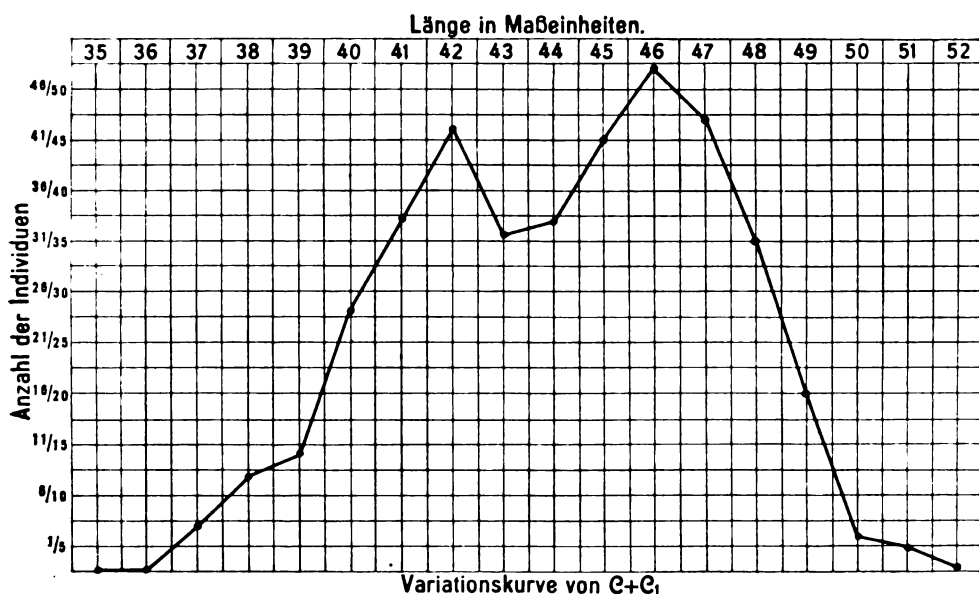


Fig. 10.

dieser Mutanten wie auch das Vorhandensein zahlreicher, konstant erblich verschiedener Rassen in der Natur zwang aber weiter nach Entstehungsmöglichkeiten für erbliche Abänderungen zu suchen. Es lag nahe, nunmehr die Periode der Conjugation daraufhin zu prüfen. Fingerzeige in dieser Richtung boten auch schon einige in den Jahren 1913 und 1914 gemachte Beobachtungen:

In einer während mehrerer Wochen in einer 0,3prozentigen Lösung meiner arsenigen Säure in Salatwasser gehaltenen Zweigkultur von c kam es zu einer Conjugationsepidemie, in deren Verlauf die Kultur fast ausstarb und im Anschluß daran zum Auf-

treten von verschieden gearteten Infusorien. Kultur c war eine meiner größten Linien mit einer Durchschnittslänge von 44—46 Maßeinheiten. Sie vertrug noch arsenige Säure in einer Konzentration von 1,1 Proz. und Temperaturen bis 30° C.

In der Zweigkultur, in der die Conjugationsepidemie aufgetreten war, fanden sich dagegen auch erheblich kleinere Infusorien in auffällig großer Zahl, und ganz ähnlich wie im Falle von  $\alpha 1$  ergab sich bei einer Messung eine zweigipflige Variationskurve (Fig. 10).

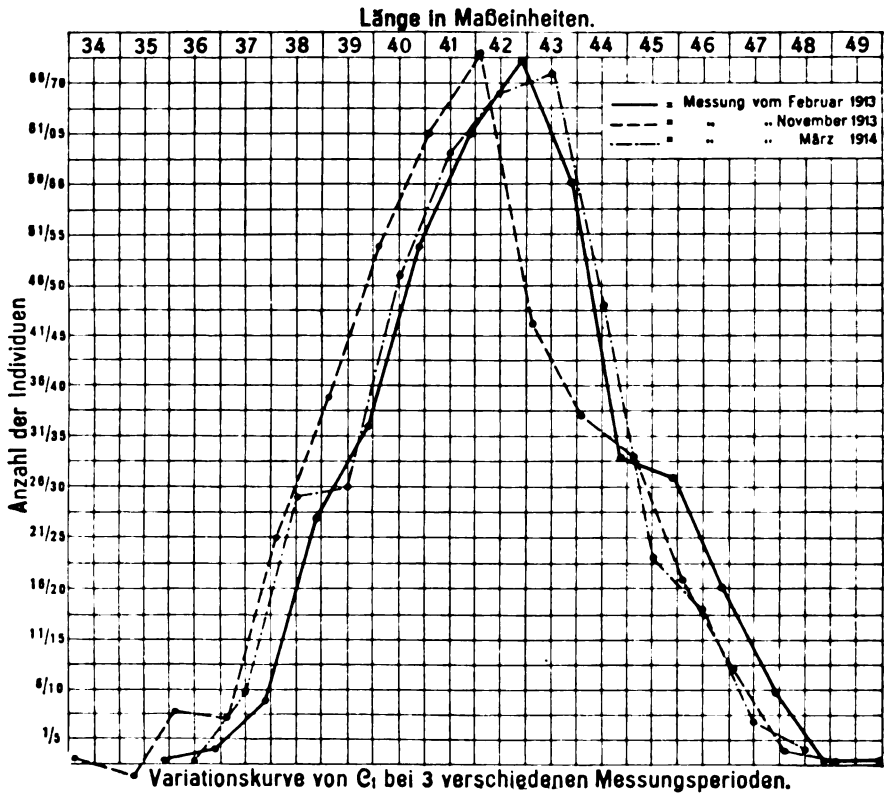
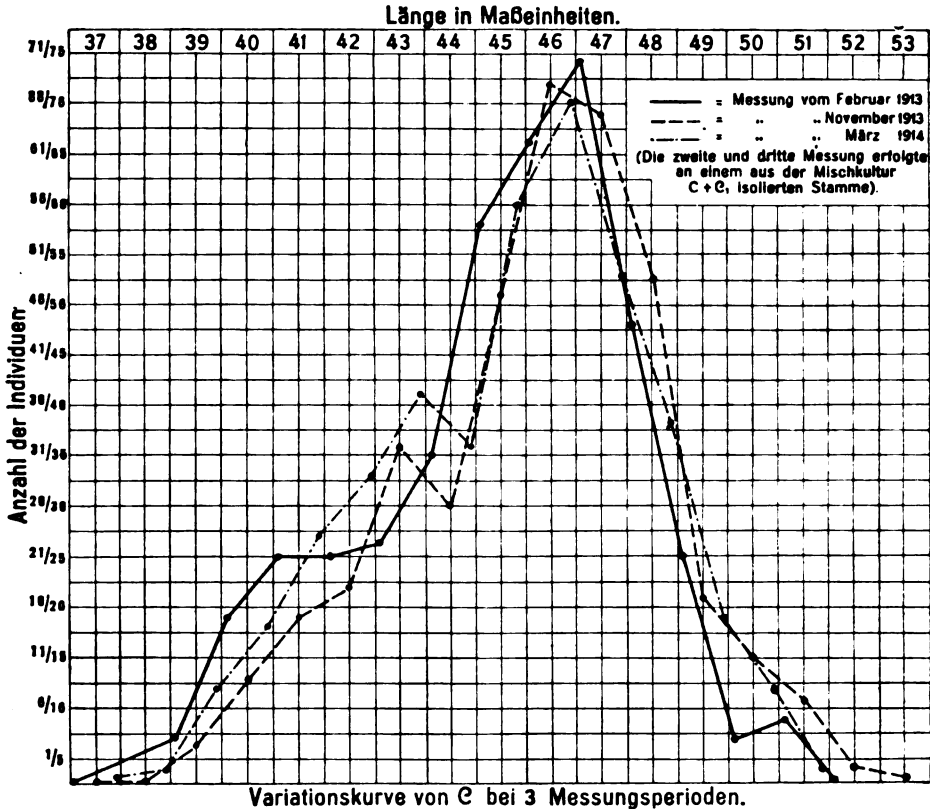


Fig. 11.

Weiterhin stellte es sich heraus, daß wenigstens ein Teil der Infusorien dieser Kultur auch noch bei 33° C dauernd gezüchtet werden konnte. Wurden nun nach längerer Weiterführung bei 33° die Zuchten wieder in Zimmertemperatur gebracht und hier nach einiger Zeit gemessen, so fand sich eine normale, eingipflige Variationskurve der Länge, die im wesentlichen der ersten Hälfte der zuvor genannten zweigipfligen Kurve entsprach (vgl. Fig. 11).

Prüfungen, die zwei und vier Monate später angestellt wurden, ergaben dasselbe Resultat. Es war also bei der höheren Temperatur offenbar zu einer Selektion gekommen: Nur die neu entstandenen Paramäcien, die wir als c1 bezeichnen wollen, hatten sich halten können, während die größere Ausgangsform c im Thermostaten bei 33° abgetötet worden war. Prüfte man nun die so gewonnenen c1 Tiere auf ihr Verhalten gegenüber arseniger Säure,



so stellte es sich heraus, daß sie stets schon durch 0,6 Proz. unserer Lösung restlos abgetötet wurden. Damit war ein bequemes Mittel gegeben, aus der Mischkultur c + c1 (in der die kleinen Paramäcien c1 entstanden waren) ganz wie bei Populationen aus dem Freien (vgl. S. 16) nach Belieben den einen oder anderen Teil rein herauszuzüchten, ohne auf zeitraubende Messungen angewiesen zu sein: Um eine Reinkultur von c1 zu erzielen, war es

nur nötig, einen Teil der Mischkultur für einige Zeit (etwa eine Woche) in 33° zu verbringen, da bei dieser Temperatur die c-Tiere eben restlos ausstarben, und um umgekehrt nur c rein zurückzuerhalten, brauchte man die Mischkultur nur der Wirkung von 0,8—1 prozentiger arseniger Säure auszusetzen, da hierdurch sämtliche c1-Tiere rasch abgetötet wurden, während c ja noch eine Konzentration von 1,1 Proz. ertragen konnte. Prüfungen der Größe, Arsen- und Temperaturreistenz so gewonnener Infusorien ergaben denn auch in der Tat vollständige Übereinstimmung mit dem Ausgangsstamm c (s. Fig. 12).

Die Entstehung von c1 aus c in einer der Wirkung einer schwachen Konzentration von arseniger Säure ausgesetzten Kultur erinnert natürlich sehr an die zuvor erwähnten, bei den Selektionsversuchen gefundenen, aber nicht in der Richtung der Selektion gelegenen abweichenden Formen von  $\alpha$ , sowie an die Entstehung von  $\alpha 1$  aus  $\alpha$  bei relativ hoher Temperatur. Und ebenso wie bei  $\alpha 1$  hielten sich bei c1 die von c abweichenden Eigenschaften während 1½ Jahren bei vegetativer Vermehrung sowie durch zwei Conjugationsperioden hindurch unverändert, soweit die Reaktionsnorm geprüft werden konnte. Aus äußeren Gründen mußte die Untersuchung leider August 1914 abgebrochen werden und während der durch die Kriegsverhältnisse bedingten längeren Unterbrechung dieser Arbeiten gingen c wie c1 zugrunde. Die vorliegenden Prüfungen dürften aber wohl genügen, um auch im Falle von c1 mit größter Wahrscheinlichkeit von einer wirklich erblichen Veränderung, von einer Mutation zu sprechen, ganz wie im Falle von  $\alpha 1$ . Wir können aber hier insofern noch einen kleinen Schritt weiterkommen, als wir in den Kulturen, in denen c1 auftrat, eben vor Entstehung unserer Mutanten Conjugationen in großer Zahl beobachten konnten, eine Feststellung, die bei  $\alpha 1$  fehlte, die aber um so mehr dazu veranlassen mußte, einen etwaigen Zusammenhang zwischen Conjugationsperioden und einem Auftreten von Mutationen zu untersuchen.

Und fast um die gleiche Zeit konnte noch eine weitere Beobachtung in der gleichen Richtung gemacht werden: Die allen Experimentatoren auf diesem Gebiete zur Genüge bekannte große Sterblichkeit der Exconjuganten von Paramácien unter den üblichen Kulturbedingungen legte den Gedanken nahe, nach einem anderen für die Exconjuganten günstigeren Zuchtmedium zu suchen, wie ich es bereits in einer Veröffentlichung aus dem Jahre 1913 andeutete (JOLLOS 1913 a). Es wurden daher eine größere Anzahl von Con-

jugationspärchen des Stammes  $\alpha$  in der Zeit von November 1912 bis Januar 1913 verschiedenen Kulturbedingungen ausgesetzt. In einer dieser Conjuganten- bzw. Exconjugantenzuchten, die auf der Höhe der Conjugation Ende Dezember 1912 in  $31^{\circ}$  versetzt worden war, und dabei in einer Liebig-Fleisch-Extrakt-Lösung von 0,005 Proz. gehalten wurde, trat nun wiederum eine Veränderung der Reaktionsnorm auf, die sich fast  $1\frac{3}{4}$  Jahre (bis August 1914) und gleichfalls durch zwei Conjugationen hindurch unter normalen Bedingungen erhielt. Während der Stamm  $\alpha$ , wie wir gesehen hatten, bis zu einer Temperatur von  $37^{\circ}$  züchtbar war und arsenige Säure in einer Konzentration bis zu 0,9 Proz. in Salatwasser, bis zu 1,1 (gelegentlich sogar 1,25 Proz.) in Bouillon vertrug, konnten Nachkommen dieser Exconjuganten noch bei  $39^{\circ}$  weitergeführt werden, wurden aber bereits von einer 0,75proz. arsenigen Säurelösung regelmäßig abgetötet. In dieser Hinsicht stimmten sie also vollständig mit der Mutante  $\alpha 1$  überein, von der sich aber diese Zuchten durch ihre von  $\alpha$  kaum differierende Größe unterschieden.

Beide beschriebenen Beobachtungen sprachen somit sehr für einen gewissen Zusammenhang zwischen Conjugationsperioden und dem Auftreten dauernder wirklich erblicher Änderungen der Reaktionsnorm.

Zur Aufklärung dieser Verhältnisse sollte nun noch folgende Versuchsanordnung dienen: Von dem zu verändernden Stamme werden vier Zweigkulturen angelegt, I, II und III in der üblichen Liebig-Fleisch-Extrakt-Lösung, IV in einer 0,3proz. Lösung unserer arsenigen Säure in Bouillon. In allen vier Kulturen wird alsdann Conjugation ausgelöst. Nach Eintritt der Paarung versetzt man die Conjuganten aus Kultur IV, die also bis zur Conjugation unter dem Einflusse arseniger Säure gestanden hatte, sowie aus Kultur II, die in Bouillon gewesen war, in Zimmermannschalen mit frischer Bouillonlösung, während die Conjuganten aus Kultur III aus der Bouillon in eine 0,3proz. arsenige Säurelösung gebracht werden.

Die Pärchen aus Kultur IV können alsdann die Conjugation in der Bouillonlösung vollenden, sich reorganisieren und vermehren ohne weiteren äußeren Veränderungen ausgesetzt zu werden. Die Pärchen aus Kultur III, die nach Eintritt der Conjugation der Wirkung der arsenigen Säure ausgesetzt worden waren, werden unmittelbar nach dem Auseinandergehen der beiden Partner einer Copula in Bouillon gebracht, und umgekehrt die Paarlinge aus Kultur II unmittelbar nach dem Auseinandergehen aus der Bouillon in die 0,3proz. arsenige Säurelösung. Die vierte als I bezeichnete

Kultur dient nur als Kontrolle; sie enthält also Paramäcien des gleichen Stammes, die die gesamten Conjugations- und Nachconjugationsprozesse in der Bouillon durchmachen konnten. Nach einer Woche werden alsdann alle vier Kulturen in frische Liebig-Fleisch-Extrakt-Lösung gebracht und in gewohnter Weise weitergeführt. Nach einer weiteren Woche, also 14 Tage nach vollendeter Conjugation, erfolgen dann die vergleichenden Prüfungen.

Wir haben dann also zum Vergleich Paramäcien des gleichen Klones, von denen

der 1. Teil (die Hauptkultur) sich nur vegetativ unter normalen Bedingungen vermehrt hat,

der 2. Teil hat unter normalen Bedingungen die ganze Conjugation durchgemacht,

der 3. Teil war bis zum Eintritt der Conjugation in 0,3proz. arseniger Säure,

der 4. Teil nur während der Verschmelzung der Paarlinge,

der 5. endlich während der 1. Woche unmittelbar nach dem Auseinandergehen der Conjuganten.

Treten also irgendwelche erblichen Veränderungen bei diesen Experimenten auf, so erlaubt uns diese Versuchsanordnung somit genau festzustellen, in welcher Lebensperiode der Paramäcien die veränderten äußeren Bedingungen eine erbliche Umstimmung der Reaktionsnorm hervorzurufen vermochten. Denn natürlich kann an Stelle der 0,3proz. arsenigen Säure höhere Temperatur oder irgendein anderer veränderter Außenfaktor gesetzt werden.

Diese Versuchsanordnung sieht auf dem Papier verhältnismäßig einfach aus. Tatsächlich aber ist ihre Durchführung mit den allergrößten Schwierigkeiten verbunden, von denen sich wohl nur der ein klares Bild machen kann, der selbst eingehender mit Paramäcien experimentiert hat:

Zunächst einmal gelingt die Auslösung der Conjugation schon unter normalen Bedingungen keineswegs mit jedem Klone oder mit jeder Zweigkultur eines Klones und zu jeder gewünschten Zeit<sup>1)</sup>.

<sup>1)</sup> Die Angaben von ENRIQUES und ZWEIBAUM über die sichere Auslösung von Conjugationen bei *Paramacium* durch bestimmte Ionenkonzentrationen vermag ich für keinen meiner Stämme zu bestätigen; und meine eigenen ausgedehnten Versuche über die Erzwingung von Conjugation — über die in einem späteren Teile dieser Studien berichtet werden soll — geben auch noch keineswegs die gewünschte Sicherheit.

Unter den künstlich veränderten Verhältnissen aber ist die Conjugationsauslösung häufig noch viel schwerer. Hinzu kommt sodann die große Hinfälligkeit der Exconjuganten. Schon unter den gewöhnlichen Kulturbedingungen ist bei diesen, wie wir schon erwähnt haben, und wohl jedem Untersucher auf diesem Gebiete zu seinem Leidwesen bekannt sein dürfte, die Mortalität eine recht hohe — unter der Einwirkung der abnormen Außenfaktoren aber, die erbliche Veränderungen hervorrufen sollen, steigt die Mortalitätsziffer der Conjuganten oder Exconjuganten meist noch ganz ungeheuerlich.

Unter diesen Umständen war es mir seit dem Jahre 1913 erst viermal möglich, den Versuch in allen Teilen ganz entsprechend der beschriebenen Anordnung durchzuführen;<sup>1)</sup> und zwar zweimal mit Verwendung von 0,3proz. Lösungen meiner arsenigen Säure, einmal mit einer 0,5proz. arsenigen Säurelösung und einmal bei Einwirkung von Calciumnitrat. Der Einfluß extremer Temperaturen konnte dagegen nicht in gleicher Vollständigkeit geprüft werden, da es mir nicht gelang, bei 30° und darüber Conjugationsepidemien zu erzielen oder die Parallelzuchten in der angegebenen Weise lange zu erhalten.

Von den vier vollständig durchgeführten Versuchsserien hatten drei, nämlich die Calciumnitratserie, die mit 0,5proz. und eine der mit 0,3proz. arseniger Säure angesetzten Reihen, kein positives Ergebnis. Bei den nach Abschluß der Einwirkungsdauer vorgenommenen Prüfungen ergaben sich hier keinerlei dauernde Unterschiede zwischen den während verschiedener Perioden der Einwirkung der veränderten Außenbedingungen ausgesetzt gewesenen Zweigkulturen. Anders war es dagegen bei der vierten Versuchsserie, die gleichfalls unter Benutzung einer 0,3proz. Lösung von arseniger Säure mit Stamm h von *Paramaecium aurelia* durchgeführt wurde. Wie unser Protokoll 9, in dem der Gang des Versuches ausführlich vermerkt ist, zeigt, traten in einer der Zweigkulturen Paramäcien auf, deren Verhalten sich dauernd und nicht unwesentlich von der Reaktionsnorm des Ausgangsstammes und aller anderen Parallelzuchten unterschied. Und zwar sehen wir, daß eine solche Abänderung nur bei den Nachkommen der Infusorien nachweisbar ist, die unmittelbar nach dem Auseinandergehen der Conjugationspartner eine Woche der Einwirkung arseniger Säure ausgesetzt waren.

---

<sup>1)</sup> Einige prinzipiell unwesentliche Vereinfachungen sind aus Protokoll 9 ohne weiteres zu ersehen.



Protokoll 9.

6. März 1916. Conjugationsepidemie in einer Kultur von h in Bouillon und einer zweiten in 0,3proz. Lösung von arseniger Säure in Bouillon ausgelöst.

Aus der arsenigen Säure werden zehn Pärchen isoliert in 0,025proz. Bouillon übertragen — Zweig h III A—K —.

Aus der Bouillon werden 30 Pärchen isoliert und drei Serien von gleichfalls je zehn Kulturen angelegt:

Zweig h II A—K kommt in 0,025proz. Bouillon.

Zweig h V A—K zunächst gleichfalls in 0,025proz. Bouillon.

Zweig h IV A—K in 0,3proz. arsenige Säure.

7. März. Von Zweig h IV sind die Pärchen B und K gestorben, Pärchen D und E aneinandergegangen. Werden ebenso wie die noch nicht getrennten sechs anderen Pärchen aus der arsenigen Säure in 0,025proz. Bouillon gebracht. Hierbei trennen sich die Partner von A, C, H und I.

Die Kulturen des Zweiges h V werden aus der Bouillon in 0,3proz. arsenige Säure gebracht. A, B, F und H bereits als getrennte Exconjuganten, die anderen noch als Pärchen, die aber — abgesehen von E — bald nach der Übertragung auseinandergehen.

- 10. März. h II Kulturen D und F }  
 h III Kultur H } tot.  
 h IV Kulturen F und G }  
 h V Kulturen B, E, F, H }
- 15. März. h II Kultur K }  
 h III Kulturen B, C, D, F, K } tot.  
 h IV Kulturen A und C }  
 h V Kulturen C, D, I, K }

Die noch überlebenden beiden Kulturen von Zweig h V (h VA und h VG) werden in 0,025proz. Bouillon übertragen.

21. März. Vergleichende Prüfung der noch lebenden Kulturen der Zweige h II bis h V und des ohne Conjugation geführten Klones h (Zweig h I).

Geprüft wurde stets das Verhalten in arseniger Säure (in 0,025proz. Bouillon) nach 6tägiger, in der Wärme nach 8tägiger Einwirkung. Die Prozentzahlen geben überall die Konzentration meiner arsenigen Säure an; die Ziffern bei der Teilungsratenprüfung die Zahl der aus einem Individuum in 24 Stunden hervorgegangenen Paramäcien.

| Proz. | 0,5 | 0,7 | 0,8 | 0,9  | 1,0 | 1,25 | 1,5 | 31° | 35° | 37° |
|-------|-----|-----|-----|------|-----|------|-----|-----|-----|-----|
| h I   | +   | ++  | ++  | +++  | ⊕   | ⊕    | ⊕   | gut | gut | ⊕   |
| A     | +   | ++  | +++ | ++++ | ⊕   | ⊕    | ⊕   | "   | "   | ⊕   |
| B     | ++  | +++ | +++ | ++++ | ⊕   | ⊕    | ⊕   | "   | "   | ⊕   |
| C     | +   | ++  | ++  | +++  | ⊕   | ⊕    | ⊕   | "   | "   | ⊕   |
| h II  | +   | ++  | +++ | +++  | ⊕   | ⊕    | ⊕   | "   | "   | ⊕   |
| E     | +   | ++  | +++ | +++  | ⊕   | ⊕    | ⊕   | "   | "   | ⊕   |
| G     | +   | ++  | +++ | +++  | ⊕   | ⊕    | ⊕   | "   | "   | ⊕   |
| H     | +   | +++ | +++ | +++  | ⊕   | ⊕    | ⊕   | "   | "   | ⊕   |
| I     | ++  | +++ | +++ | ++++ | ⊕   | ⊕    | ⊕   | "   | "   | ⊕   |
| h III | ++  | +++ | +++ | ++++ | ⊕   | ⊕    | ⊕   | "   | ⊕   | ⊕   |
| A     | ++  | +++ | +++ | ++++ | ⊕   | ⊕    | ⊕   | "   | ⊕   | ⊕   |
| E     | +   | ++  | +++ | +++  | ⊕   | ⊕    | ⊕   | "   | gut | ⊕   |
| G     | +   | ++  | +++ | +++  | ⊕   | ⊕    | ⊕   | "   | "   | ⊕   |
| I     | ++  | +++ | +++ | +++  | ⊕   | ⊕    | ⊕   | "   | "   | ⊕   |

| Proz. | 0,5 | 0,7 | 0,8  | 0,9 | 1,0  | 1,25 | 1,5 | 31° | 35° | 37° |
|-------|-----|-----|------|-----|------|------|-----|-----|-----|-----|
| h IV  | D   | ++  | +++  | +++ | ⊕    | ⊕    | ⊕   | gut | gut | ⊕   |
|       | E   | +   | +++  | +++ | ++++ | ⊕    | ⊕   | "   | "   | ⊕   |
|       | H   | ++  | +++  | +++ | ++++ | ⊕    | ⊕   | "   | ⊕   | ⊕   |
|       | I   | +   | ++   | +++ | +++  | ⊕    | ⊕   | "   | gut | ⊕   |
| h V   | A   | ++  | ++++ | ⊕   | ⊕    | ⊕    | ⊕   | "   | "   | gut |
|       | G   | ++  | +++  | ⊕   | ⊕    | ⊕    | ⊕   | "   | "   | "   |

|       |   | März 1916 |     |     |     |     |     |     |     |     |     |    | Teilungsrate. |    |    |    |    |    |    |    |     |     |     |     |     |     |   | April |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
|-------|---|-----------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|----|---------------|----|----|----|----|----|----|----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|---|-------|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|
|       |   | 22.       | 23. | 24. | 25. | 26. | 27. | 28. | 29. | 30. | 31. | 1. | 2.            | 3. | 4. | 5. | 6. | 7. | 8. | 9. | 10. | 11. | 12. | 13. | 14. | 15. |   |       |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| h I   |   | 4         | 4   | 2   | 4   | 4   | 2   | 2   | 4   | 4   | 2   | 4  | 2             | 4  | 4  | 4  | 4  | 2  | 2  | 4  | 2   | 4   | 2   | 1+  | 2   | 4   |   |       |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| h II  | A | 4         | 2   | 2   | 4   | 4   | 2   | 2   | 4   | 4   | 2   | 2  | 4             | 4  | 2  | 2  | 4  | 2  | 2  | 4  | 2   | 4   | 4   | 2   | 2   | 2   |   |       |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
|       | E | 4         | 4   | 2   | 3   | 4   | 2   | 2   | 4   | 4   | 2   | 4  | 2             | 4  | 4  | 4  | 2  | 2  | 2  | 4  | 2   | 2   | 1+  | 4   | 2   | 4   |   |       |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| h III | A | 4         | 4   | 2   | 2   | 4   | 2   | 2   | 3   | 4   | 2   | 4  | 2             | 4  | 4  | 2  | 2  | 4  | 2  | 4  | 2   | 2   | 1+  | 2   | 2   | 4   |   |       |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
|       | E | 4         | 4   | 2   | 4   | 2   | 2   | 2   | 4   | 4   | 2   | 4  | 2             | 2  | 4  | 4  | 4  | 2  | 2  | 4  | 2   | 2   | 2   | 4   | 2   | 4   |   |       |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| h IV  | D | 4         | 2   | 2   | 4   | 4   | 2   | 2   | 2   | 4   | 2   | 4  | 2             | 2  | 4  | 4  | 2  | 2  | 4  | 4  | 2   | 2   | 4   | 2   | 2   | 4   |   |       |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
|       | E | 4         | 2   | 4   | 2   | 2   | 2   | 2   | 4   | 4   | 2   | 4  | 2             | 2  | 4  | 4  | 4  | 2  | 4  | 4  | 2   | 2   | 1+  | 2   | 4   | 4   |   |       |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| h V   | A | 2         | 2   | 1   | 2   | 2   | 2   | 1   | 2   | 3   | 2   | 2  | 1             | 2  | 2  | 2  | 2  | 1  | 3  | 2  | 2   | 1   | 1+  | 2   | 2   | 2   |   |       |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
|       | G | 2         | 2   | 2   | 2   | 2   | 1   | 1   | 2   | 4   | 2   | 2  | 1             | 2  | 2  | 2  | 2  | 2  | 2  | 2  | 2   | 2   | 1   | 1+  | 2   | 2   | 2 |       |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |

16. April. Abermalige Prüfung der Gift-, Wärme-Resistenz und Teilungsrate.

| Proz. | 0,5 | 0,7 | 0,8 | 0,9 | 1,0  | 1,25 | 1,5 | 31° | 35° | 37°  |
|-------|-----|-----|-----|-----|------|------|-----|-----|-----|------|
| h I   | ++  | ++  | +++ | +++ | ⊕    | ⊕    | ⊕   | gut | gut | ⊕    |
| h II  | A   | ++  | ++  | +++ | +++  | ⊕    | ⊕   | "   | "   | ⊕    |
|       | B   | +   | ++  | ++  | +++  | ⊕    | ⊕   | "   | ⊕   | ⊕    |
|       | C   | ++  | ++  | +++ | +++  | ⊕    | ⊕   | "   | gut | ⊕    |
|       | E   | ++  | ++  | +++ | +++  | ⊕    | ⊕   | ⊕   | gut | ⊕    |
|       | H   | ++  | +++ | +++ | ++++ | ⊕    | ⊕   | ⊕   | gut | ⊕    |
| h III | A   | ++  | ++  | +++ | +++  | ⊕    | ⊕   | "   | "   | ⊕    |
|       | E   | +   | ++  | ++  | +++  | ⊕    | ⊕   | "   | "   | ⊕    |
|       | G   | ++  | +++ | +++ | ++++ | ⊕    | ⊕   | "   | "   | ⊕    |
|       | I   | ++  | ++  | +++ | +++  | ⊕    | ⊕   | "   | "   | ⊕    |
| h IV  | D   | ++  | ++  | +++ | +++  | ⊕    | ⊕   | "   | ⊕   | ⊕    |
|       | E   | ++  | ++  | +++ | +++  | ⊕    | ⊕   | "   | gut | ⊕    |
|       | H   | +   | ++  | ++  | +++  | ⊕    | ⊕   | "   | "   | ⊕    |
|       | I   | +   | ++  | +++ | +++  | ⊕    | ⊕   | "   | "   | ⊕    |
| h V   | A   | ++  | +++ | ⊕   | ⊕    | ⊕    | ⊕   | "   | "   | gut. |
|       | G   | ++  | +++ | ⊕   | ⊕    | ⊕    | ⊕   | "   | "   | "    |

|       |   | Teilungsrate. |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     | April |     |     |     |    |    |    |    |    |    | Mai |    |    |     |  |  |  |  |  |  |
|-------|---|---------------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-------|-----|-----|-----|----|----|----|----|----|----|-----|----|----|-----|--|--|--|--|--|--|
|       |   | 16.           | 17. | 18. | 19. | 20. | 21. | 22. | 23. | 24. | 25. | 26. | 27.   | 28. | 29. | 30. | 1. | 2. | 3. | 4. | 5. | 6. | 7.  | 8. | 9. | 10. |  |  |  |  |  |  |
| h I   |   | 4             | 2   | 2   | 4   | 2   | 4   | 2   | 2   | 4   | 2   | 4   | 2     | 4   | 2   | 2   | 2  | 4  | 4  | 4  | 2  | 4  | 2   | 4  | 2  | 4   |  |  |  |  |  |  |
| h II  | A | 1+            | 2   | 4   | 4   | 2   | 4   | 2   | 2   | 2   | 4   | 4   | 2     | 4   | 2   | 4   | 4  | 2  | 4  | 4  | 2  | 4  | 2   | 2  | 4  | 4   |  |  |  |  |  |  |
|       | E | 4             | 2   | 2   | 4   | 2   | 4   | 2   | 4   | 2   | 2   | 4   | 2     | 4   | 4   | 2   | 2  | 2  | 4  | 3  | 2  | 2  | 2   | 4  | 2  | 4   |  |  |  |  |  |  |
| h III | A | 4             | 2   | 2   | 4   | 2   | 4   | 2   | 2   | 3   | 4   | 4   | 2     | 2   | 2   | 4   | 2  | 4  | 4  | 2  | 2  | 3  | 2   | 4  | 2  | 2   |  |  |  |  |  |  |
|       | E | 1+            | 4   | 2   | 4   | 2   | 4   | 2   | 2   | 2   | 4   | 4   | 2     | 4   | 2   | 2   | 2  | 4  | 4  | 2  | 4  | 4  | 2   | 2  | 4  | 4   |  |  |  |  |  |  |
| h IV  | D | 2             | 1+  | 4   | 2   | 2   | 4   | 4   | 2   | 4   | 2   | 3   | 4     | 4   | 2   | 2   | 2  | 3  | 4  | 2  | 4  | 4  | 2   | 4  | 2  | 4   |  |  |  |  |  |  |
|       | E | 4             | 2   | 4   | 2   | 2   | 4   | 2   | 2   | 3   | 2   | 4   | 2     | 2   | 2   | 2   | 4  | 4  | 2  | 4  | 2  | 4  | 2   | 2  | 2  | 4   |  |  |  |  |  |  |
| h V   | A | 2             | 2   | 2   | 2   | 1   | 2   | 2   | 2   | 2   | 2   | 2   | 1     | 4   | 2   | 2   | 1  | 2  | 2  | 2  | 2  | 2  | 2   | 4  | 2  | 2   |  |  |  |  |  |  |
|       | G | 2             | 2   | 2   | 2   | 1   | 2   | 2   | 3   | 2   | 2   | 2   | 2     | 2   | 2   | 2   | 1  | 2  | 2  | 2  | 2  | 2  | 2   | 4  | 2  | 2   |  |  |  |  |  |  |

18. Mai. Abermalige Prüfung.

|       | Proz. | Teilungsrate. |      |     |     |      |      |     |     |     |     | 31° |     |     | ca. 35° |     |     | 37° |     |  |  |  |  |  |  |  |
|-------|-------|---------------|------|-----|-----|------|------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|---------|-----|-----|-----|-----|--|--|--|--|--|--|--|
|       |       | 0,5           | 0,7  | 0,8 | 0,9 | 1,0  | 1,25 | 1,5 | gut | gut | gut | gut | gut | gut | gut     | gut | gut | gut | gut |  |  |  |  |  |  |  |
| h I   |       | +             | ++   | +++ | +++ | ++++ | ⊕    | ⊕   | gut | gut | ⊕   |     |     |     |         |     |     |     |     |  |  |  |  |  |  |  |
| h II  | A     | ++            | ++   | +++ | +++ | ⊕    | ⊕    | ⊕   | gut | gut | ⊕   |     |     |     |         |     |     |     |     |  |  |  |  |  |  |  |
|       | B     | ++            | +++  | +++ | +++ | ⊕    | ⊕    | ⊕   | gut | gut | ⊕   |     |     |     |         |     |     |     |     |  |  |  |  |  |  |  |
|       | C     | +             | ++   | +++ | +++ | ⊕    | ⊕    | ⊕   | gut | gut | ⊕   |     |     |     |         |     |     |     |     |  |  |  |  |  |  |  |
|       | E     | ++            | ++   | +++ | +++ | ⊕    | ⊕    | ⊕   | gut | gut | ⊕   |     |     |     |         |     |     |     |     |  |  |  |  |  |  |  |
| h III | G     | ++            | ++   | +++ | +++ | ⊕    | ⊕    | ⊕   | gut | gut | ⊕   |     |     |     |         |     |     |     |     |  |  |  |  |  |  |  |
|       | H     | ++            | ++   | +++ | +++ | ⊕    | ⊕    | ⊕   | gut | gut | ⊕   |     |     |     |         |     |     |     |     |  |  |  |  |  |  |  |
|       | I     | +             | ++   | +++ | +++ | ⊕    | ⊕    | ⊕   | gut | gut | ⊕   |     |     |     |         |     |     |     |     |  |  |  |  |  |  |  |
|       | A     | +             | ++   | +++ | +++ | ⊕    | ⊕    | ⊕   | gut | gut | ⊕   |     |     |     |         |     |     |     |     |  |  |  |  |  |  |  |
| h IV  | E     | +             | ++   | +++ | +++ | ⊕    | ⊕    | ⊕   | gut | gut | ⊕   |     |     |     |         |     |     |     |     |  |  |  |  |  |  |  |
|       | H     | ++            | ++   | +++ | +++ | ⊕    | ⊕    | ⊕   | gut | gut | ⊕   |     |     |     |         |     |     |     |     |  |  |  |  |  |  |  |
|       | I     | ++            | ++   | +++ | +++ | ⊕    | ⊕    | ⊕   | gut | gut | ⊕   |     |     |     |         |     |     |     |     |  |  |  |  |  |  |  |
|       | D     | +             | ++   | +++ | +++ | ⊕    | ⊕    | ⊕   | gut | gut | ⊕   |     |     |     |         |     |     |     |     |  |  |  |  |  |  |  |
| h V   | A     | ++            | +++  | ⊕   | ⊕   | ⊕    | ⊕    | ⊕   | gut | gut | ⊕   |     |     |     |         |     |     |     |     |  |  |  |  |  |  |  |
|       | G     | ++            | ++++ | ⊕   | ⊕   | ⊕    | ⊕    | ⊕   | gut | gut | ⊕   |     |     |     |         |     |     |     |     |  |  |  |  |  |  |  |

|       |   | Teilungsrate. |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     | Mai |    |    |    |    |    | Juni |  |  |  |  |  |
|-------|---|---------------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|----|----|----|----|----|------|--|--|--|--|--|
|       |   | 20.           | 21. | 22. | 23. | 24. | 25. | 26. | 27. | 28. | 29. | 30. | 31. | 1. | 2. | 3. | 4. | 5. | 6.   |  |  |  |  |  |
| h I   |   | 4             | 4   | 2   | 2   | 4   | 4   | 2   | 4   | 4   | 2   | 2   | 1+  | 2  | 4  | 4  | 4  | 2  | 4    |  |  |  |  |  |
| h II  | B | 4             | 4   | 2   | 4   | 4   | 2   | 2   | 2   | 4   | 2   | 4   | 2   | 2  | 1+ | 4  | 4  | 2  | 2    |  |  |  |  |  |
|       | H | 4             | 2   | 2   | 4   | 2   | 4   | 4   | 4   | 2   | 2   | 2   | 1+  | 2  | 4  | 2  | 4  | 2  | 4    |  |  |  |  |  |
| h III | G | 4             | 4   | 2   | 4   | 2   | 4   | 2   | 4   | 2   | 4   | 2   | 2   | 2  | 1+ | 4  | 4  | 2  | 4    |  |  |  |  |  |
|       | I | 4             | 4   | 2   | 2   | 3   | 2   | 2   | 6   | 2   | 4   | 2   | 2   | 4  | 2  | 2  | 4  | 2  | 2    |  |  |  |  |  |
| h IV  | H | 4             | 4   | 2   | 2   | 4   | 2   | 4   | 2   | 2   | 4   | 2   | 2   | 1+ | 2  | 4  | 2  | 2  | 4    |  |  |  |  |  |
|       | I | 4             | 4   | 2   | 3   | 4   | 2   | 2   | 4   | 4   | 2   | 2   | 1+  | 4  | 2  | 4  | 2  | 4  | 4    |  |  |  |  |  |
| h V   | A | 2             | 2   | 2   | 2   | 2   | 2   | 2   | 2   | 2   | 2   | 2   | 2   | 2  | 2  | 1+ | 2  | 2  | 2    |  |  |  |  |  |
|       | G | 2             | 2   | 2   | 2   | 1   | 4   | 2   | 2   | 2   | 2   | 2   | 2   | 2  | 2  | 2  | 2  | 1+ | 1    |  |  |  |  |  |

Da sämtliche Linien von h II, h III und h IV unter sich und mit dem Ausgangsstamm (h I) bei allen Prüfungen völlig übereinstimmen, so werden sie nicht weiter geführt.

15. Juni. Weitere vergleichende Prüfung von h I und h V.

| Proz. | 0,5    | 0,7        | 0,8          | 0,9    | 1,0    | 1,25   | 1,5    | 35°      | 37°      |
|-------|--------|------------|--------------|--------|--------|--------|--------|----------|----------|
| h I   | ++     | ++         | +++          | +++    | ⊕      | ⊕      | ⊕      | leidlich | ⊕        |
| h V   | A<br>G | +++<br>+++ | ++++<br>++++ | ⊕<br>⊕ | ⊕<br>⊕ | ⊕<br>⊕ | ⊕<br>⊕ | gut<br>" | gut<br>" |

Teilungsrate.

|     |   | Juni |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|---|------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
|     |   | 16.  | 17. | 18. | 19. | 20. | 21. | 22. | 23. | 24. | 25. | 26. | 27. | 28. | 29. | 30. |
| h I |   | 4    | 2   | 2   | 4   | 2   | 4   | 4   | 2   | 2   | 2   | 4   | 4   | 2   | 4   | 4   |
| h V | A | 2    | 2   | 2   | 2   | 1   | 4   | 2   | 2   | 2   | 1   | 2   | 3   | 1   | 2   | 2   |
|     | G | 2    | 2   | 2   | 2   | 2   | 2   | 2   | 2   | 2   | 1   | 2   | 2   | 2   | 2   | 4   |

1. Oktober 1916. Weitere Prüfung der Gift- und Wärmeresistenz.

| Proz. | 0,5    | 0,7       | 0,8        | 0,9    | 1,0    | 1,25   | 1,5    | 31°    | 35°    | 37°             |
|-------|--------|-----------|------------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|-----------------|
| h I   | ++     | ++        | +++        | +++    | ⊕      | ⊕      | ⊕      | gut    | gut    | ⊕               |
| h V   | A<br>G | +++<br>++ | +++<br>+++ | ⊕<br>⊕ | ⊕<br>⊕ | ⊕<br>⊕ | ⊕<br>⊕ | "<br>" | "<br>" | gut<br>leidlich |

4. Dezember 1916. Weitere Prüfung.

|     |        |          |            |        |        |        |        |   |        |        |          |
|-----|--------|----------|------------|--------|--------|--------|--------|---|--------|--------|----------|
| h I |        | +        | +++        | +++    | ++++   | ⊕      | ⊕      | ⊕ | gut    | gut    | ⊕        |
| h V | A<br>G | ++<br>++ | +++<br>+++ | ⊕<br>⊕ | ⊕<br>⊕ | ⊕<br>⊕ | ⊕<br>⊕ | — | "<br>" | "<br>" | gut<br>" |

Da h V A und h V G sich bei allen Prüfungen als identisch erwiesen haben, so wird h V G nicht weiter geführt, h V A nur mehr als h V bezeichnet.

17. Dezember 1916. In einer Abzweigung von h V Conjugationen erzielt. Es werden zehn Pärchen isoliert und zusammen als Kultur h V Conj. weitergezüchtet.

3. Januar 1917. Vergleichende Prüfung von h I, h V, h V Conj.

| Proz.     | 0,5 | 0,7 | 0,8  | 0,9  | 1,0  | 1,25 | 1,5 | 31° | 35° | 37° |
|-----------|-----|-----|------|------|------|------|-----|-----|-----|-----|
| h I       | +   | ++  | +++  | ++++ | ++++ | ⊕    | ⊕   | gut | gut | ⊕   |
| h V       |     | +++ | ++++ | ⊕    | ⊕    | ⊕    | ⊕   | "   | "   | gut |
| h V Conj. |     | +++ | ⊕    | ⊕    | ⊕    | ⊕    | ⊕   | "   | "   | "   |

29. Januar 1917. In Abzweigungen von h I, h V und h V Conj. wird Parthenogenesis erzielt, alsdann Prüfung der Teilungsrate von Individuen, die eben Parthenogenesis durchgemacht haben.

Februar

|           | 1. | 2. | 3. | 4. | 5. | 6. | 7. | 8. | 9. | 10. | 11. | 12. | 13. | 14. | 15. | 16. | 17. | 18. | 19. | 20. |
|-----------|----|----|----|----|----|----|----|----|----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| h I       | 4  | 2  | 2  | 4  | 2  | 4  | 4  | 2  | 4  | 2   | 4   | 4   | 2   | 4   | 4   | 2   | 8   | 2   | 2   | 4   |
| h V       | 2  | 2  | 2  | 2  | 2  | 4  | 1  | 2  | 2  | 2   | 2   | 2   | 2   | 2   | 2   | 2   | 4   | 2   | 2   | 2   |
| h V Conj. | 2  | 2  | 2  | 2  | 2  | 3  | 2  | 2  | 2  | 2   | 2   | 2   | 2   | 2   | 2   | 2   | 4   | 2   | 2   | 2   |

} als  
Massenkultur  
fortgeführt.

4. März. Abermalige Prüfung (an Abzweigungen der nach Parthenogenesis gewonnenen Massenkulturen).

| Proz.     | 0,5 | 0,7  | 0,8 | 0,9 | 1,0 | 1,25 | 1,5 | 35° | 37° |
|-----------|-----|------|-----|-----|-----|------|-----|-----|-----|
| h I       | +   | ++   | +++ | +++ | ⊕   | ⊕    | ⊕   | gut | ⊕   |
| h V       | ++  | +++  | ⊕   | ⊕   | ⊕   | ⊕    | ⊕   | „   | gut |
| h V Conj. | +++ | ++++ | ⊕   | ⊕   | ⊕   | ⊕    | ⊕   | „   | „   |

Teilungsrate.

März

|           | 5. | 6. | 7. | 8. | 9. | 10. | 11. | 12. | 13. | 14. | 15. | 16. | 17. | 18. | 19. | 20. |
|-----------|----|----|----|----|----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| h I       | 4  | 2  | 4  | 2  | 2  | 4   | 2   | 4   | 4   | 2   | 2+  | 2   | 4   | 3   | 4   | 2   |
| h V       | 2  | 2  | 2  | 2  | 2  | 2   | 1   | 3   | 3   | 2   | 1+  | 2   | 2   | 2   | 2   | 2   |
| h V Conj. | 2  | 2  | 1  | 2  | 2  | 2   | 2   | 2   | 2   | 2   | 2   | 2   | 2   | 1+  | 2   | 2   |

2. April. In einer Abzweigung von h V Conj. abermals Conjugation erzielt. Es werden sechs Pärchen einzeln in Uhrsälchen übertragen (in 0,01 Proz. Bouillon).

10. April. Aus den Nachkommen eines dieser Pärchen wird die Massenkultur h V C2 angelegt.

17. April. Vergleichende Prüfung von h I, h V, h V Conj. und h V C2.

| Proz.     | 0,5 | 0,7  | 0,8 | 0,9  | 1,0 | 1,25 | 1,5 | 35° | 37° |
|-----------|-----|------|-----|------|-----|------|-----|-----|-----|
| h I       | ++  | +++  | +++ | ++++ | ⊕   | ⊕    | ⊕   | gut | ⊕   |
| h V       | ++  | ++++ | ⊕   | ⊕    | ⊕   | ⊕    | ⊕   | „   | gut |
| h V Conj. | ++  | +++  | ⊕   | ⊕    | ⊕   | ⊕    | ⊕   | „   | „   |
| h V C2    | ++  | +++  | ⊕   | ⊕    | ⊕   | ⊕    | ⊕   | „   | „   |

Teilungsrate.

April

|           | 18. | 19. | 20. | 21. | 22. | 23. | 24. | 25. | 26. | 27. | 28. | 29. | 30. | 1. | 2. | 3.  | 4. | 5. |
|-----------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|----|----|-----|----|----|
| h I       | 2   | 4   | 4   | 2   | 2   | 4   | 4   | 2   | 4   | 4   | 2   | 2   | 1+4 | 4  | 4  | 2   | 4  | 4  |
| h V       | 2   | 2   | 2   | 2   | 1   | 2   | 2   | 2   | 2   | 4   | 2   | 2   | 2   | 2  | 2  | 1+2 | 2  | 2  |
| h V Conj. | 2   | 2   | 2   | 2   | 2   | 2   | 2   | 2   | 4   | 2   | 2   | 2   | 1+4 | 2  | 1  | 2   | 2  | 2  |
| h V C2    | 2   | 2   | 2   | 2   | 2   | 2   | 2   | 2   | 2   | 3   | 2   | 2   | 2   | 2  | 2  | 2   | 1  | 2  |

Mai.

27./29. April. In einer Abzweigung von h V Parthenogenesis ausgelöst, die nach der Parthenogenesis gebildeten Individuen werden weiter schroffem Temperaturwechsel (18°—31°—18° usw.) und dem Einfluß eines kleinen alkalibildenden Bakteriums ausgesetzt, um eine Reihe von Parthenogenesisen hintereinander zu erzielen.

7. Mai. Wieder Parthenogenesis, Zweig wird entsprechend durch durch die Parthenogenesis hindurchgekommene Individuen weitergeführt.

21. Mai. Dritte Parthenogenesis.

30. Mai. Vierte Parthenogenesis.

16. Juni. Fünfte Parthenogenesis.

29. Juni. Sechste Parthenogenesis.

Die durch sechs erzwungene Parthenogenesisen hindurchgeführten Individuen werden als Zweig h V P in Massenkultur weitergeführt.

30. Juni. Vergleichende Prüfung der Teilungsrate.

|        | Juli |    |    |    |    |    |    |    |
|--------|------|----|----|----|----|----|----|----|
|        | 1.   | 2. | 3. | 4. | 5. | 6. | 7. | 8. |
| h I    | 4    | 4  | 2  | 4  | 8  | 4  | 2  | 2  |
| h V    | 2    | 2  | 2  | 2  | 4  | 2  | 2  | 2  |
| h V C2 | 2    | 2  | 2  | 3  | 4  | 1  | 2  | 2  |
| h V P  | 2    | 2  | 2  | 2  | 4  | 2  | 2  | 2  |

29. September. In einer Abzweigung von h V C2 wird Conjugation erzielt. Drei Kulturen mit je zehn isolierten Pärchen angelegt (Kulturen h V C3).

12. Oktober. Eine der Kulturen h V C3 eingegangen.

13. Oktober. Vergleichende Prüfung aller Zweige.

| Proz.     | 0,5 | 0,7  | 0,8 | 0,9 | 1,0 | 1,25 | 1,5 | 35° | 37° |
|-----------|-----|------|-----|-----|-----|------|-----|-----|-----|
| h I       | +   | ++   | +++ | +++ | ⊕   | ⊕    | ⊕   | gut | ⊕   |
| h V       | ++  | +++  | ⊕   | ⊕   | ⊕   | ⊕    | ⊕   | „   | gut |
| h V Conj. | ++  | +++  | ⊕   | ⊕   | ⊕   | ⊕    | ⊕   | „   | ⊕   |
| h V C2    | +++ | +++  | ⊕   | ⊕   | ⊕   | ⊕    | ⊕   | „   | gut |
| h V C3    | +++ | ++++ | ⊕   | ⊕   | ⊕   | ⊕    | ⊕   | ⊕   | ⊕   |
| h V P     | +++ | ++++ | ⊕   | ⊕   | ⊕   | ⊕    | ⊕   | gut | gut |

Die beiden Zweigkulturen von h V C3 verhielten sich gleich.

2. November. Prüfung der Teilungsrate unmittelbar nach erfolgter Parthenogenesis in h I, h V, h V C3, h V P.

|        | November |    |    |    |    |    |    |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |  |  |
|--------|----------|----|----|----|----|----|----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|--|--|
|        | 3.       | 4. | 5. | 6. | 7. | 8. | 9. | 10. | 11. | 12. | 13. | 14. | 15. | 16. | 17. | 18. | 19. | 20. |  |  |
| h I    | 2        | 4  | 4  | 2  | 2  | 4  | 2  | 4   | 2   | 2   | 2   | 4   | 2   | 4   | 4   | 2   | 2   | 4   |  |  |
| h V    | 2        | 2  | 4  | 1  | 2  | 2  | 2  | 2   | 1   | 2   | 2   | 2   | 2   | 2   | 2   | 2   | 2   | 3   |  |  |
| h V C3 | 2        | 2  | 2  | 2  | 2  | 2  | 2  | 2   | 2   | 2   | 2   | 2   | 1   | 4   | 1   | 2   | 2   | 2   |  |  |
| h V P  | 2        | 2  | 2  | 2  | 2  | 2  | 2  | 2   | 2   | 2   | 1   | 2   | 2   | 2   | 2   | 2   | 2   | 2   |  |  |

17. Januar 1918. In einer Abzweigung von h V C3 wird Conjugation erzielt. Drei Kulturen mit je 20 Pärchen angelegt, die als Zweig h V C4 bezeichnet werden.

1. Februar. Zwei dieser Kulturen (h V C4) eingegangen (in der Zwischenzeit).

1. Februar. Vergleichende Prüfung aller Zweige.

| Proz.     | 0,5 | 0,7  | 0,8 | 0,9 | 1,0 | 1,25 | 1,5 | 35°      | 37° |
|-----------|-----|------|-----|-----|-----|------|-----|----------|-----|
| h I       | ++  | +++  | +++ | ⊕   | ⊕   | ⊕    | ⊕   | leidlich | ⊕   |
| h V       | ++  | ++++ | ⊕   | ⊕   | ⊕   | ⊕    | ⊕   | gut      | gut |
| h V Conj. | ++  | ++++ | ⊕   | ⊕   | ⊕   | ⊕    | ⊕   | "        | "   |
| h V C2    | ++  | ++++ | ⊕   | ⊕   | ⊕   | ⊕    | ⊕   | "        | "   |
| h V C3    | +++ | ++++ | ⊕   | ⊕   | ⊕   | ⊕    | ⊕   | "        | "   |
| h V C4    | ++  | ++++ | ⊕   | ⊕   | ⊕   | ⊕    | ⊕   | "        | "   |
| h V P     | ++  | ++++ | ⊕   | ⊕   | ⊕   | ⊕    | ⊕   | "        | "   |

Teilungsrate.

|           | Februar |    |    |    |    |    |    |    |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |   |
|-----------|---------|----|----|----|----|----|----|----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|---|
|           | 2.      | 3. | 4. | 5. | 6. | 7. | 8. | 9. | 10. | 11. | 12. | 13. | 14. | 15. | 16. | 17. | 18. | 19. | 20. | 21. |   |
| h         | 2       | 4  | 4  | 2  | 4  | 4  | 4  | 4  | 2   | 4   | 2   | 4   | 4   | 2   | 4   | 4   | 2   | 4   | 4   | 2   |   |
| h V       | 2       | 2  | 2  | 2  | 2  | 4  | 2  | 2  | 2   | 2   | 1   | 2   | 2   | 2   | 2   | 2   | 2   | 2   | 3   | 2   | 2 |
| h V Conj. | 2       | 2  | 2  | 2  | 2  | 2  | 2  | 2  | 2   | 2   | 2   | 1   | 2   | 2   | 2   | 2   | 2   | 2   | 2   | 2   | 2 |
| h V C2    | 2       | 2  | 2  | 2  | 2  | 2  | 2  | 2  | 2   | 2   | 2   | 1   | 2   | 2   | 2   | 2   | 2   | 2   | 4   | 2   | 2 |
| h V C3    | 2       | 2  | 2  | 2  | 2  | 2  | 2  | 2  | 2   | 3   | 2   | 2   | 2   | 1   | 2   | 2   | 2   | 2   | 2   | 2   | 2 |
| h V C4    | 2       | 2  | 2  | 2  | 3  | 4  | 1  | 2  | 2   | 2   | 2   | 2   | 2   | 2   | 2   | 2   | 2   | 2   | 2   | 3   | 1 |
| h V P     | 2       | 2  | 2  | 2  | 2  | 2  | 2  | 2  | 2   | 2   | 2   | 2   | 2   | 1   | 2   | 2   | 2   | 4   | 2   | 1   |   |

21. Februar. Die Zweige h V Conj., h V C2, h V C3 werden nicht mehr weiter geführt.

22. Januar und später. Versuche in Abzweigungen von h V P wiederum mehrere Parthenogenesen hintereinander zu erzwingen. Zur Weiterzucht als h V P werden stets nur Paramácien verwandt, die die Parthenogenese überstanden haben. Parthenogenese erfolgt am 4. Februar, dann am 21. Februar, am 15. März, am 28. März und ein fünftes Mal am 2. Mai.

Bei diesen Versuchen zeigt sich noch klarer als bei den entsprechenden Versuchsserien vom Maibis Juni 1917, das die Parthenogenese in Zweig h V wesentlich schwerer und in längeren Zwischenräumen auslösbar ist, als bei dem Ausgangsstamme h (= h I), der ungefähr um die gleiche Zeit und mit der gleichen Technik wiederholt zur Parthenogenese gezwungen wurde (vgl. z. B. Tabelle 14).

In dieser beträchtlich schwereren Auslösbarkeit der Parthenogenese ist somit ein weiterer Unterschied zwischen h V und h I gegeben.

26. Mai. Vergleichende Prüfung aller Zweige.

| Proz.  | 0,5 | 0,7  | 0,8 | 0,9  | 1,0 | 1,5 | 35°      | 37° |
|--------|-----|------|-----|------|-----|-----|----------|-----|
| h I    | ++  | +++  | +++ | ++++ | ⊕   | ⊕   | leidlich | ⊕   |
| h V    | ++  | +++  | ⊕   | ⊕    | ⊕   | ⊕   | gut      | gut |
| h V C4 | +++ | ++++ | ⊕   | ⊕    | ⊕   | ⊕   | "        | ⊕   |
| h V P  | +++ | +++  | ⊕   | ⊕    | ⊕   | ⊕   | "        | gut |

Teilungsrate.

|       | Mai |     |     |     |     | Juni |    |    |    |    |    |    |    |    |
|-------|-----|-----|-----|-----|-----|------|----|----|----|----|----|----|----|----|
|       | 27. | 28. | 29. | 30. | 31. | 1.   | 2. | 3. | 4. | 5. | 6. | 7. | 8. | 9. |
| h I   | 4   | 4   | 4   | 4   | 2   | 4    | 4  | 2  | 4  | 4  | 2  | 4  | 2  | 2  |
| h V   | 2   | 2   | 4   | 2   | 2   | 2    | 2  | 2  | 1  | 4  | 2  | 2  | 2  | 2  |
| h VC4 | 2   | 4   | 2   | 2   | 2   | 2    | 2  | 2  | 2  | 2  | 1  | 2  | 2  | 2  |
| h VP  | 2   | 2   | 3   | 2   | 2   | 2    | 2  | 2  | 2  | 2  | 2  | 2  | 2  | 2  |

24. Juni. Abermalige Prüfung.

| Proz. | 0,5 | 0,7 | 0,8   | 0,9 | 1,0  | 1,25 | 1,5 | 35° | 37° |
|-------|-----|-----|-------|-----|------|------|-----|-----|-----|
| h I   | +   | ++  | ++    | +++ | ++++ | ⊕    | ⊕   | gut | ⊕   |
| h V   | ++  | +++ | ⊕     | ⊕   | ⊕    | ⊕    | ⊕   | "   | gut |
| h VC4 | ++  | +++ | + +++ | ⊕   | ⊕    | ⊕    | ⊕   | "   | ⊕   |
| h VP  | ++  | +++ | ⊕     | ⊕   | ⊕    | ⊕    | ⊕   | ⊕   | ⊕   |

Teilungsrate.

|       | Juni |     |     |     |     |     | Juli |    |    |    |    |    |    |    |
|-------|------|-----|-----|-----|-----|-----|------|----|----|----|----|----|----|----|
|       | 24.  | 25. | 26. | 27. | 28. | 29. | 30.  | 1. | 2. | 3. | 4. | 5. | 6. | 7. |
| h I   | 2    | 4   | 4   | 2   | 4   | 4   | 4    | 2  | 2  | 4  | 2  | 4  | 4  | 2  |
| h V   | 2    | 2   | 2   | 2   | 2   | 4   | 2    | 2  | 2  | 2  | 1  | 2  | 2  | 2  |
| h VC4 | 2    | 2   | 2   | 2   | 2   | 3   | 2    | 2  | 2  | 2  | 1  | 2  | 2  | 2  |
| h VP  | 1    | 2   | 2   | 2   | 2   | 4   | 2    | 2  | 2  | 2  | 2  | 2  | 2  | 2  |

2. November 1918 und später. Versuche zur Auslösung wiederholter Parthenogenesen in h VP und h VC4.

4. November. Erste Parthenogenese in h VP und h VC4.

15. November. Zweite Parthenogenese in h VP.

17. November. Zweite Parthenogenese in h VC4.

30. November. Dritte Parthenogenese in h VP und h VC4.

15. Dezember 1918. Vergleichende Prüfung aller Zweige.

| Proz. | 0,5 | 0,7 | 0,8 | 0,9 | 1,0 | 1,25 | 1,5 | 35° | 37° | 39° |
|-------|-----|-----|-----|-----|-----|------|-----|-----|-----|-----|
| h I   | +   | ++  | +++ | +++ | ⊕   | ⊕    | ⊕   | gut | ⊕   | ⊕   |
| h V   | ++  | +++ | ⊕   | ⊕   | ⊕   | ⊕    | ⊕   | "   | gut | ⊕   |
| h VC4 | +   | +++ | ⊕   | ⊕   | ⊕   | ⊕    | ⊕   | "   | "   | ⊕   |
| h VP  | ++  | +++ | ⊕   | ⊕   | ⊕   | ⊕    | ⊕   | "   | "   | ⊕   |

Teilungsrate.

|       | Dezember |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-------|----------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
|       | 16.      | 17. | 18. | 19. | 20. | 21. | 22. | 23. | 24. | 25. |
| h I   | 2        | 2   | 4   | 2   | 2   | 2   | 4   | 2   | 4   | 2   |
| h VC4 | 1        | 1   | 2   | 2   | 1   | 2   | 2   | 1   | 2   | 2   |
| h VP  | 1        | 1   | 2   | 1   | 2   | 2   | 2   | 1   | 2   | 1   |



6./9. April 1919. Auslösung von Conjugationen in hVC4 und hVP. Beide Zweige werden alsdann aus Exconjuganten weitergeführt, die Exconjugantenzucht von hVC4 als Zweig hVC5 bezeichnet. Bei einem Pärchen von hVP gelingt es 8 Zweigkulturen aus den 8 aus den ersten beiden Exconjugantenteilungen hervorgegangenen Individuen zu erhalten.

26. April. Vergleichende Prüfung aller Zweige.

| Proz. | 0,5  | 0,7  | 0,8 | 0,9  | 1,0 | 1,25 | 1,5 | 35° | 37° | 39° |
|-------|------|------|-----|------|-----|------|-----|-----|-----|-----|
| hI    | +    | ++   | +++ | ++++ | ⊕   | ⊕    | ⊕   | gut | ⊕   | ⊕   |
| hV    | ++   | +++  | ⊕   | ⊕    | ⊕   | ⊕    | ⊕   | "   | gut | ⊕   |
| hVC5  | +    | +++  | ⊕   | ⊕    | ⊕   | ⊕    | ⊕   | "   | "   | ⊕   |
| hVPa  | ++   | +++  | ⊕   | ⊕    | ⊕   | ⊕    | ⊕   | "   | "   | ⊕   |
| " b   | ++   | ++++ | ⊕   | ⊕    | ⊕   | ⊕    | ⊕   | "   | "   | ⊕   |
| " c   | ++   | +++  | ⊕   | ⊕    | ⊕   | ⊕    | ⊕   | "   | "   | ⊕   |
| " d   | ++++ | ⊕    | ⊕   | ⊕    | ⊕   | ⊕    | ⊕   | "   | ⊕   | ⊕   |
| " e   | ++   | +++  | ⊕   | ⊕    | ⊕   | ⊕    | ⊕   | "   | gut | ⊕   |
| " f   | ++++ | ⊕    | ⊕   | ⊕    | ⊕   | ⊕    | ⊕   | ⊕   | gut | ⊕   |
| " g   | ++++ | +++  | ⊕   | ⊕    | ⊕   | ⊕    | ⊕   | gut | gut | ⊕   |
| " h   | ++   | +++  | ⊕   | ⊕    | ⊕   | ⊕    | ⊕   | "   | "   | ⊕   |

Teilungsrate.

|      | April |     |     |     | Mai |    |    |    |    |    |    |    |    |     |     |
|------|-------|-----|-----|-----|-----|----|----|----|----|----|----|----|----|-----|-----|
|      | 27.   | 28. | 29. | 30. | 1.  | 2. | 3. | 4. | 5. | 6. | 7. | 8. | 9. | 10. | 11. |
| hI   | 2     | 4   | 4   | 2   | 4   | 2  | 2  | 2  | 4  | 2  | 4  | 2  | 4  | 2   | 2   |
| hV   | 1     | 4   | 2   | 2   | 2   | 2  | 1  | 1  | 2  | 2  | 2  | 2  | 2  | 2   | 1   |
| hVC5 | 2     | 2   | 2   | 2   | 2   | 1  | 2  | 1  | 2  | 2  | 3  | 2  | 2  | 2   | 2   |
| hVPa | 2     | 2   | 2   | 1   | 2   | 1  | 2  | 2  | 2  | 2  | 2  | 1  | 4  | 2   | 2   |
| " b  | 2     | 2   | 2   | 2   | 2   | 2  | 2  | 1  | 2  | 2  | 2  | 1  | 2  | 2   | 2   |
| " c  | 2     | 2   | 2   | 2   | 2   | 2  | 2  | 1  | 3  | 2  | 2  | 1  | 2  | 2   | 2   |
| " d  | 2     | 2   | 2   | 2   | 2   | 2  | 2  | 2  | 2  | 2  | 2  | 1  | 2  | 2   | 1   |
| " e  | 1     | 3   | 2   | 2   | 2   | 1  | 1  | 2  | 2  | 2  | 2  | 1  | 3  | 2   | 2   |
| " f  | 2     | 2   | 2   | 2   | 2   | 1  | 2  | 2  | 2  | 2  | 2  | 2  | 2  | 2   | 2   |
| " g  | 2     | 2   | 2   | 1   | 2   | 2  | 2  | 2  | 2  | 2  | 2  | 1  | 2  | 2   | 2   |
| " h  | 2     | 2   | 2   | 2   | 2   | 2  | 2  | 2  | 2  | 2  | 2  | 1  | 4  | 2   | 1   |

11. Mai. Die Zweige hVP b, c, e, g, h werden, da sie mit hVPa (also auch mit hV und hVC5) in jeder Hinsicht übereinstimmen nicht weiter geführt.

25. Mai. Abermalige Prüfung.

| Proz. | 0,5 | 0,7 | 0,8 | 0,9 | 1,0 | 1,5 | 35° | 37° | 39° |
|-------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| hI    | ++  | +++ | +++ | ⊕   | ⊕   | ⊕   | gut | ⊕   | ⊕   |
| hV    | ++  | +++ | ⊕   | ⊕   | ⊕   | ⊕   | "   | gut | ⊕   |
| hVC5  | ++  | +++ | ⊕   | ⊕   | ⊕   | ⊕   | "   | "   | ⊕   |
| hVPa  | ++  | +++ | ⊕   | ⊕   | ⊕   | ⊕   | "   | "   | ⊕   |
| hVPd  | ++  | +++ | ⊕   | ⊕   | ⊕   | ⊕   | "   | "   | ⊕   |
| hVPf  | ++  | +++ | ⊕   | ⊕   | ⊕   | ⊕   | "   | "   | ⊕   |

Teilungsrate.

|      | Mai |     |     |     |     |     | Juni |    |    |    |    |    |    |    |    |
|------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|------|----|----|----|----|----|----|----|----|
|      | 26. | 27. | 28. | 29. | 30. | 31. | 1.   | 2. | 3. | 4. | 5. | 6. | 7. | 8. | 9. |
| hI   | 2   | 4   | 2   | 4   | 4   | 2   | 2    | 4  | 2  | 2  | 4  | 2  | 2  | 2  | 4  |
| hVC5 | 2   | 2   | 2   | 2   | 3   | 2   | 1    | 2  | 2  | 2  | 2  | 2  | 1  | 1  | 2  |
| hVPa | 2   | 2   | 2   | 2   | 2   | 2   | 2    | 4  | 1  | 2  | 2  | 2  | 1  | 1  | 2  |
| hVPd | 2   | 2   | 2   | 2   | 2   | 2   | 2    | 2  | 1  | 1  | 4  | 1  | 2  | 1  | 2  |
| hVPf | 2   | 2   | 2   | 1   | 4   | 2   | 2    | 2  | 2  | 2  | 2  | 2  | 1  | 1  | 2  |

10. Juni 1919. Wegen Mangel an Nährlösung (Liebig-Fleisch-Extrakt) wird Zweig hV und hVPf, die sich als identisch mit hVC5 und hVPa und hVPd erwiesen haben, nicht weiter geführt.

20. Juni. Abermalige Prüfung der Teilungsrate und Wärmeresistenz.

|      | Juni |     |     |     |     |     |     |     |     |     | 35° | 37° | ca. 39° |         |
|------|------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|---------|---------|
|      | 21.  | 22. | 23. | 24. | 25. | 26. | 27. | 28. | 29. | 30. |     |     |         | 1. Juli |
| hI   | 2    | 2   | 4   | 2   | 4   | 4   | 2   | 2   | 4   | 2   | 4   | gut | ⊕       | ⊕       |
| hVC5 | 2    | 2   | 2   | 2   | 4   | 2   | 2   | 1   | 2   | 2   | 2   | "   | gut     | ⊕       |
| hVPa | 2    | 1   | 4   | 2   | 2   | 2   | 2   | 2   | 2   | 1   | 2   | "   | "       | ⊕       |
| hVPd | 2    | 2   | 2   | 2   | 2   | 2   | 2   | 1   | 2   | 2   | 2   | "   | "       | ⊕       |

30. Juni. Auch Zweig hVPd wird ausgeschaltet.

3./5. November 1919. Auslösung von Parthenogenesis in hI, hVC5 und hVPa.

7. November. Letzte Prüfung der Teilungsrate.

|      | November |    |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|------|----------|----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
|      | 8.       | 9. | 10. | 11. | 12. | 13. | 14. | 15. | 16. | 17. | 18. | 19. | 20. | 21. | 22. | 23. | 24. | 25. | 26. | 27. |
| hI   | 4        | 2  | 4   | 4   | 2   | 8   | 2   | 4   | 2   | 2   | 4   | 2   | 2   | 4   | 2   | 4   | 2   | 2   | 2   | 4   |
| hVC5 | 2        | 2  | 2   | 2   | 4   | 2   | 2   | 2   | 1   | 1   | 2   | 2   | 2   | 2   | 2   | 1   | 2   | 2   | 2   | 2   |
| hVPa | 2        | 2  | 2   | 2   | 2   | 4   | 2   | 2   | 2   | 1   | 2   | 2   | 1   | 2   | 2   | 1   | 2   | 2   | 2   | 2   |

16. November. Letzte Prüfung der Arsen- und Wärmeresistenz.

| As <sub>2</sub> O <sub>3</sub> | Proz. |     |     |     |     |      |     | ca. 35° | ca. 37° |
|--------------------------------|-------|-----|-----|-----|-----|------|-----|---------|---------|
|                                | 0,5   | 0,7 | 0,8 | 0,9 | 1,0 | 1,25 | 1,5 |         |         |
| hI                             | ++    | ++  | +++ | +++ | ⊕   | ⊕    | ⊕   | gut     | ⊕       |
| hVC5                           | ++    | +++ | ⊕   | ⊕   | ⊕   | ⊕    | ⊕   | "       | gut     |
| hVPa                           | ++    | +++ | ⊕   | ⊕   | ⊕   | ⊕    | ⊕   | "       | "       |

Während alle Zweige, die nur vor der Conjugation oder während der Verschmelzung der beiden Conjuganten in 0,3 prozentiger arseniger Säure gewesen waren, entweder schon gleich bei der ersten Prüfung oder doch nach relativ kurzer Zeit in jeder geprüften Hinsicht mit dem unter normalen Kulturbedingungen geführten Ausgangsstamme vollständig übereinstimmten, zeigen die Nachkommen der als Exconjuganten in arsenige Säure verbrachten Paramäcien sowohl in ihrer Teilungsrate, wie in ihrer Arsenresistenz, wie endlich auch in ihrer Züchtbarkeit bei höheren Temperaturen ein nicht unwesentlich

anderes Verhalten. Und diese Umstimmung der Reaktionsnorm, die sich somit auch hier auf von Macronucleusvariationen relativ unabhängige Charaktere erstreckte, blieb, wie unser Protokoll 9 lehrt, dauernd bestehen. Sie erhielt sich über 3 Jahre bei vegetativer Vermehrung. Sie war auch nicht durch eine Häufung künstlich ausgelöster Parthenogenesen zur Rückbildung zu bringen, und sie überdauerte endlich auch fünf Conjugationsperioden unter „normalen“ Bedingungen: Dies Verhalten der abgeänderten Paramäcien gibt uns somit wohl die Berechtigung, die beschriebenen Veränderungen als echte Mutationen zu betrachten, und gleichzeitig erlaubt uns unsere ganze Versuchsanordnung mit aller wünschenswerten Klarheit den Schluß zu ziehen, daß eine erbliche Umstimmung der Reaktionsnorm, eine Mutation, bei unseren Paramäcien durch die Einwirkung abnormer äußerer Faktoren in der Zeit unmittelbar nach der Trennung der Conjugationspartner erzielt werden kann.

Dieser wichtige Schluß wurde nun auch durch weitere Versuchsergebnisse vollauf bestätigt. Denn wenn es mir, wie zuvor erwähnt, auch nicht gelang, andere vollständige Versuchsserien unter der beschriebenen Anordnung mit positivem Abänderungserfolg durchzuführen, so konnte doch die Einwirkung extremer Außenfaktoren auf einzelne Etappen geprüft werden. Und auch hierbei konnten noch zweimal dauernde erbliche Veränderungen des untersuchten Klones nachgewiesen werden. Auch diese Mutationen aber traten in Zweigkulturen auf, die während des gleichen Conjugationsabschnittes, nämlich für die Dauer der ersten Woche unmittelbar nach dem Auseinandertreten der Conjuganten oder doch nach längerem Bestehen der Paarung extremen Temperaturen ausgesetzt worden waren (vgl. Tab. 17 u. 18). Bei allen Kulturen dagegen, die nur bis zum Eintritt oder nur während des größten Teiles der Verschmelzung der Wirkung von arseniger Säure, Calciumnitrat oder extremen Temperaturen unterstanden hatten, fanden sich entweder überhaupt keine oder nur nach kürzerer oder längerer Zeit zurückgehende Veränderungen, ganz wie wir sie in den vorangegangenen Abschnitten als Modifikationen und Dauermodifikationen kennen lernten.

Auch die Teilversuche führen somit, ebenso wie die in Protokoll 9 geschilderte vollständige Serie zu dem gleichen Ergebnis, zu einem Ergebnis, das auch aufs schönste die am Anfang dieses Kapitels geschilderten zufälligen Beobachtungen über das Auftreten der Mutationen klärt. Während der letzten Phase der Conjugation und, soweit wir bisher sehen können, nur während

Tabelle 17.

In einer Zweigkultur des Stammes IV von *Paramaecium caudatum* treten am 4. Januar 1916 vereinzelt Conjugationspärchen auf, die isoliert und am 5. Januar 1916 morgens einzeln in gut geschlossene Uhrschälchen mit stark verdünntem Salatwasser gebracht und zum Teil (18) in 31°, zum Teil (4) in 21° versetzt werden. In den nächsten Tagen gehen in 31° 17 der Zweigkulturen zugrunde, in 21° nur eine. Am 14. Januar 1916 werden die übrig gebliebenen Zuchten in 1/4 Gläser mit Liebig-Fleischextraktlösung überführt und sämtlich bis zum 5. November 1917 bei 21°, dann bei Zimmertemperatur gehalten. Zwischen den drei von Anfang an bei 21° gehaltenen Exconjugantenzuchten und dem Ausgangsstamm ist kein Unterschied nachweisbar. Sie werden in der Tabelle als Stamm IV, die zunächst bei 31° gehaltene Exconjugantenzucht als IV A bezeichnet. Die Tabelle zeigt das Verhalten am achten Tage nach Versetzung in die angegebene Lösung oder Temperatur.

| Stamm<br>und Datum              | Verhalten<br>in einer Lösung arseniger Säure von |     |      |     |     |     |      | Verhalten bei<br>einer Temperatur<br>von |     |     | Mittlere<br>Länge |                |
|---------------------------------|--|-----|------|-----|-----|-----|------|--|-----|-----|-------------------|----------------|
|                                 | Proz.  | 0,5 | 0,75 | 0,9 | 1,0 | 1,1 | 1,25 | 1,5                                      | 30° | 35° |                   | 37°            |
| IV } 6. Februar<br>IV A } 1916  | ++   | +++ | +++  | ⊕   | ⊕   | ⊕   | ⊕    | ⊕  | 0   | ⊕   | ⊕                 | 44,4<br>44,9   |
| IV } 20. Februar<br>IV A } 1916 | +  | +++ | +++  | ⊕   | ⊕   | ⊕   | ⊕    | ⊕  | 0   | ⊕   | ⊕                 | 44,75<br>45,05 |
| IV } 4. April<br>IV A } 1916    | ++   | ++  | +++  | +++ | ⊕   | ⊕   | ⊕    | ⊕  | 0   | ⊕   | ⊕                 | 44,6<br>44,7   |
| IV } 20. Juni<br>IV A } 1916    | ++   | +++ | +++  | +++ | ⊕   | ⊕   | ⊕    | ⊕  | 0   | ⊕   | ⊕                 | —<br>—         |
| IV } 28. Oktober<br>IV A } 1916 | ++   | +++ | +++  | +++ | ⊕   | ⊕   | ⊕    | ⊕  | 0   | ⊕   | ⊕                 | —<br>—         |
| IV } 4. November<br>IV A } 1918 | +  | +++ | +++  | ⊕   | ⊕   | ⊕   | ⊕    | ⊕  | 0   | ⊕   | ⊕                 | —<br>—         |
| IV } 1. Mai<br>IV A } 1919      | ++   | +++ | +++  | +++ | ⊕   | ⊕   | ⊕    | ⊕  | 0   | ⊕   | ⊕                 | —<br>—         |

Bei Stamm IV A werden am 30. September 1916 und am 9. April 1919 Conjugationen erzielt, die späteren Prüfungen erfolgten an aus Exconjuganten erhaltenen Weiterzuchten.

Tabelle 18.

Am 15./16. April 1917 wird in einer Kultur von *h* Conjugation erzielt, am 16. April abends mehrere Pärchen einzeln in gut geschlossenen Zimmermannschalen mit Liebig - Fleischextraktlösung (0,01 Proz.) in 31° versetzt, bis zum 24. April unter diesen Bedingungen belassen. Sechs Zuchten gehen dabei zugrunde, zwei entwickeln sich; werden am 24. April in  $\frac{1}{4}$  l-Gläser und 21° Thermostaten übertragen. Die eine der beiden Zuchten zeigt bei einer Prüfung am 28. April keinen Unterschied gegenüber *h*. Sie geht Anfang Mai durch Zufall ein. Die andere als *h<sub>m</sub>* bezeichnete, weist folgende Unterschiede gegenüber *h* auf. Angegeben ist stets das Verhalten am fünften Tage nach Versetzung in die Giftlösung und am achten Tage nach Versetzung in höhere Temperatur.

| Stamm<br>und Datum   | Verhalten in einer Lösung<br>arseniger Säure (in Bouillon) von |           |            |          |        |        | Verhalten bei<br>einer Temperatur<br>von |        |          | Anzahl der<br>Teilungen<br>innerhalb<br>von 5 Tagen |         |
|--|--|-----------|------------|----------|--------|--------|--|--------|----------|---|---------|
|  | Proz.  | 0,5       | 0,75       | 0,9      | 1,0    | 1,25   | 1,5                                      | 30°    | ca. 35°  |   | 37°     |
| <i>h</i> }<br><i>h<sub>m</sub></i> } Mai 1917                | ++<br>+  | ++<br>++  | +++<br>++  | ⊕<br>+++ | ⊕<br>⊕ | ⊕<br>⊕ | ⊕<br>⊕                                   | 0<br>0 | 0<br>0   | ⊕<br>0  | 8<br>12 |
| <i>h</i> }<br><i>h<sub>m</sub></i> } Oktober 1917            | +<br>+   | ++<br>++  | +++<br>+++ | ⊕<br>+++ | ⊕<br>⊕ | ⊕<br>⊕ | ⊕<br>⊕                                   | 0<br>0 | 0<br>0   | ⊕<br>+++  | 8<br>11 |
| <i>h</i> }<br><i>h<sub>m</sub></i> } Jan. 1918 <sup>*)</sup> | +<br>+   | ++<br>++  | ++<br>+++  | ⊕<br>⊕   | ⊕<br>⊕ | ⊕<br>⊕ | ⊕<br>⊕                                   | 0<br>0 | 0<br>0   | ⊕<br>0  | 9<br>12 |
| <i>h</i> }<br><i>h<sub>m</sub></i> } Juni 1918               | ++<br>++   | +++<br>++ | ⊕<br>++    | ⊕<br>+++ | ⊕<br>⊕ | ⊕<br>⊕ | ⊕<br>⊕                                   | 0<br>0 | ⊕<br>+++ | ⊕<br>0  | 8<br>11 |
| <i>h</i> }<br><i>h<sub>m</sub></i> } Dezember<br>1918        | +<br>++  | ++<br>+++ | +++<br>⊕   | ⊕<br>⊕   | ⊕<br>⊕ | ⊕<br>⊕ | ⊕<br>⊕                                   | 0<br>0 | 0<br>0   | ⊕<br>⊕  | 6<br>7  |
| <i>h</i> }<br><i>h<sub>m</sub></i> } März 1919               | ++<br>+  | ++<br>++  | +++<br>++  | ⊕<br>+++ | ⊕<br>⊕ | ⊕<br>⊕ | ⊕<br>⊕                                   | 0<br>0 | +++<br>0 | ⊕<br>0  | 6<br>8  |
| <i>h</i> }<br><i>h<sub>m</sub></i> } Mai 1919                | ++<br>+  | +++<br>++ | ⊕<br>+++   | ⊕<br>+++ | ⊕<br>⊕ | ⊕<br>⊕ | ⊕<br>⊕                                   | 0<br>0 | 0<br>0   | ⊕<br>+++  | 7<br>9  |
| <i>h</i> }<br><i>h<sub>m</sub></i> } Juni 1919               | +<br>+   | ++<br>++  | +++<br>+++ | ⊕<br>+++ | ⊕<br>⊕ | ⊕<br>⊕ | ⊕<br>⊕                                   | 0<br>0 | 0<br>0   | ⊕<br>0  | 8<br>10 |

\*) Conjugation wurde bei *h<sub>m</sub>* im Dezember 1917 und März 1919 ausgelöst; alle späteren Prüfungen beziehen sich auf aus Exconjuganten erhaltene Zuchten.

dieser, können äußere Einflüsse die erbliche Reaktionsnorm der Paramäcien abändern. Sie können also die Erbanlagen der Infusorien umstimmen, echte Mutationen hervorrufen.

Unsere Beobachtungen zeigen aber weiter, daß es auch während dieser „sensiblen Periode“ bisher nur in einem recht kleinen Prozentsatz gelingt, derartige erbliche Veränderungen hervorzurufen: Von den vier vollständig durchgeführten Versuchsserien hatte nur eine, wie wir sahen, ein positives Ergebnis; und unter wenigstens 50 Experimenten, bei denen Pärchen kurz vor, oder die Exconjuganten unmittelbar nach ihrem Auseinandergehen der Einwirkung von höheren Temperaturen oder von arseniger Säure ausgesetzt wurden, führten auch nur zwei zur Auslösung echter Mutationen. Und wenn man endlich berücksichtigt, daß eine noch viel größere Anzahl von Exconjuganten-Kulturen bei der Versetzung in die veränderten Außenbedingungen zugrunde geht, so erscheint die Aussicht auf die Erzielung einer Mutante noch erheblich ungünstiger<sup>1)</sup>. Doch auf dieses prozentuale Verhältnis, das sich ja bei einer besseren Beherrschung der Conjugationsbedingungen und Exconjugantenzucht sicherlich noch wesentlich verbessern läßt, kommt es uns hier nicht an, sondern nur auf die prinzipielle Feststellung der Auslösbarkeit von Mutationen während einer ganz bestimmten Entwicklungsperiode, ein Nachweis, der durch die erwähnten Beobachtungen und Versuchsanordnungen wohl einwandfrei geführt sein dürfte — einwandfrei wenigstens, soweit es sich um die Feststellung dauernd, auch über eine Reihe von Befruchtungsvorgängen, somit über eine Reihe von echten Generationen, sich ungeschwächt vererbender Abänderungen handelt.

Dürfen wir aber auf Grund solcher Konstanz die beobachteten Umwandlungen auch als „genotypische“, als Mutationen bezeichnen? Die Begriffe „Gen“ und „genotypisch“ sind aus dem vor allem bei Kreuzungsversuchen sich offenbarenden Verhalten der Pflanzen und Metazoen gewonnen und finden eben hierin in erster Linie ein Kriterium, ein Kriterium, das uns bei unseren Paramäcien allerdings

<sup>1)</sup> Es sei aber noch ganz besonders betont, daß auch in der „sensiblen Periode“ ebenso wie in den anderen Conjugationsabschnitten (s. oben) durch die Einwirkung arseniger Säure oder extremer Temperaturen auch Dauermodifikationen, besonders offenbar auch Variationen der Macronuclei, wie wir sie schon bei unseren Wärme-**einwirkungen** kennen lernten, hervorgerufen werden können. Nur eine gründliche, verschieden gerichtete und langdauernde Prüfung der auftretenden Abänderung erlaubt also den Schluß auf eine Mutation, wie wir sie in unseren Tabellen finden, anderenfalls können leicht Dauermodifikationen als Mutationen angesprochen werden und der Prozentsatz der Mutationen damit allzu günstig erscheinen.

noch nicht zur Verfügung steht. Obwohl somit das letzte Glied in der Beweiskette, der Nachweis alternativer Vererbung, bei den in diesem Abschnitte geschilderten Veränderungen noch fehlt, glauben wir dennoch durchaus berechtigt zu sein, sie schon jetzt für genotypische Veränderungen, also für echte Mutationen zu erklären. Denn „genotypisch“ bedeutet ja vor allem auch einen Gegensatz zu „phänotypisch“; genotypische Veränderung, Mutation, bedeutet Veränderung der Erbanlagen selbst, im Gegensatz zur phänotypischen Veränderung, der veränderten Realisation gleichgebliebener Erbanlagen. Dieser Gegensatz aber wird auch ohne Nachweis alternativer Vererbung bei einer über eine Anzahl von Generationen hinweg ausgedehnten Beobachtung erkennbar, bei den Infusorien so gut wie bei den vielzelligen Lebewesen, und er eben scheidet die von uns zuletzt beschriebenen, sich auch nach fünf echten Generationen konstant erhaltenden Umwandlungen von allen phänotypischen Umstimmungen, auch von den hartnäckigsten Dauermodifikationen.

Der Aufklärung bedürftig erscheint noch die Frage, ob vielleicht auch im Zusammenhange mit der Parthenogenesis eine entsprechende sensible Periode auftritt. Einen solchen Schluß könnten manche der in früheren Abschnitten geschilderten Befunde nahelegen, so z. B. das Auftreten abweichend reagierender Infusorien bei den Selektionsversuchen mit Stamm  $\alpha$ , wobei die Abweichungen nicht in der Selektionsrichtung lagen, oder die Entstehung der  $\alpha 1$ -Mutante aus  $\alpha$  in einer bei 30° gehaltenen Zucht. Denn in beiden Fällen waren vor dem Auftreten der abgeänderten Form keinerlei Conjugationen beobachtet worden, im Falle von  $\alpha 1$  war sogar unter den bestehenden Kulturbedingungen das Auftreten von Conjugationen recht wenig wahrscheinlich, während Parthogenesis, auf die damals noch nicht geachtet wurde, natürlich nicht auszuschließen ist. Für einen Zusammenhang zwischen Parthenogenesis und Mutation sprechen endlich vielleicht auch die neuen, von ganz anderen Vorstellungen beherrschten und dementsprechend auch wesentlich anders ausgedeuteten Versuche und Ergebnisse von ERDMANN (1920), die im allgemeinen Teile eingehender besprochen werden sollen. Andererseits ist es aber doch auffällig, daß bei den zahlreichen Versuchsserien, bei denen Klone meiner Paramäcien sehr lange, also fraglos auch über mehrere Parthenogenesisperioden hinweg, der Einwirkung von höheren Temperaturen oder Lösungen von arseniger Säure ausgesetzt waren (vgl. S. 34, 94/123), nur Modifikationen und Dauermodifikationen, aber keine Mutationen nachgewiesen werden konnten. Das mir bisher zur Verfügung stehende experimentelle Material erlaubt also noch keinen endgültigen Schluß.

### E. Kombinationen.

In den vorangegangenen Abschnitten haben wir neben zahlreichen Abänderungen, die nicht im strengen Sinne als erblich anzusprechen und daher nur als Modifikationen oder Dauermodifikationen zu werten waren, schließlich auch streng erbliche, genotypische Umstimmungen der Reaktionsnorm von Klonen unserer Paramäcien unter dem Einfluß abgeänderter Außenbedingungen während einer bestimmten Entwicklungsperiode kennen gelernt. Damit wäre schon eine hinlängliche Erklärung für das Zustandekommen der zahlreichen in der Natur vorkommenden verschiedenen Rassen innerhalb der systematischen Art für unser Versuchsobjekt gegeben. Es fragt sich nun aber noch, ob wir nicht in Übereinstimmung mit den durch die neuere Vererbungslehre bei Metazoen und Pflanzen gewonnenen Ergebnissen auch bei den Infusorien noch Variabilitäterscheinungen ganz anderer Art nachweisen können:

Wir unterscheiden bei Metazoen und Pflanzen, wenn wir der Nomenklatur BAUR's folgen, neben den Modifikationen, den nicht erblichen, somatischen Veränderungen, und den Mutationen, den Veränderungen der Gene, noch drittens die Kombinationen, Veränderungen, die zwar ebenfalls auf die Gene zurückzuführen sind, aber nicht auf einer Abänderung der Gene selbst, sondern auf einer Änderung des Genbestandes beruhen. Während aber die experimentelle Erblichkeitsforschung bei den vielzelligen Lebewesen gerade die Kombinationen in erster Linie untersuchte, sind bei Protisten derartige Variabilitäterscheinungen bisher nur ganz vereinzelt beschrieben worden. (Versuche von PASCHER bei *Chlamydomonas* und BURGEFF bei *Phycomyces*). Können wir nun auch bei unseren Paramäcien Kombinationen nachweisen?

Der theoretisch einfachste Weg zu Kombinationen zu gelangen, die Kreuzung zweier verschiedener Rassen, ist hier bisher noch nicht möglich gewesen. Erfolge in dieser Richtung sind auch nicht eher zu erwarten, als bis wir die Bedingungen der Conjugation besser übersehen und beherrschen. Versuche, in Kulturen die zwei möglichst verschiedene Rassen meiner Paramäcien enthielten (z. B. M und c oder M und  $\alpha$ ), Conjugationsepidemien hervorzurufen, führten noch zu keinem Ergebnis, da die nach solchen Conjugationsepidemien aus den isolierten Exconjuganten gezogenen Stämme immer nur die Eigenschaften einer der verwandten Ausgangsrassen aufwiesen. Offenbar conjugierten eben immer nur Angehörige der gleichen Linie



miteinander, ein Verhalten, das ja auch nach den Beobachtungen von JENNINGS und LASHLEY nicht wundernehmen kann.

War somit auf dem Wege der Kreuzung der Nachweis von Kombinationen bei Paramäcien bisher nicht zu führen, so blieb noch die Möglichkeit, ihr Vorkommen durch die Feststellung aufspaltender heterozygoter Klone darzutun. Bei eingehender Prüfung des großen aus dem Freien gewonnenen Materials konnten in der Tat einige Beobachtungen gemacht werden, die für das Vorhandensein solcher heterozygoter Paramäcien, also von Kombinationen auch bei unseren Infusorien sehr zu sprechen scheinen.

Auf eine von mir als Kombination gedeutete erbliche Veränderung innerhalb eines Klones habe ich bereits kurz hingewiesen (JOLLOS 1913 a). Es handelte sich dabei um folgenden Tatbestand: Von einer aus einem Weiher bei Possenhofen bei München frisch ins Laboratorium gebrachten Population von *Paramecium caudatum* wurde eine Individuallinie (V) angelegt und in Salatwasser weitergeführt. Die Prüfung ihrer Widerstandsfähigkeit gegenüber arseniger Säure ergab sowohl im April und Mai wie auch bei späterer Untersuchung im Juli und September 1912, daß die Infusorien stets durch eine 1,1 proz. Konzentration meiner Stammlösung restlos abgetötet wurden. Während dieser sechs Monate konnte ich keine Conjugationen in den Kulturen beobachten; sie waren bei den gewählten Kulturbedingungen auch kaum zu erwarten. Im Oktober 1912 wurde nun ein Teil der Kulturen zur Conjugation veranlaßt, der Rest unverändert weitergeführt. Am 12./13. Oktober kam es zu einer Conjugationsepidemie, nach deren Ablauf die Widerstandsfähigkeit der Paramäcien gegenüber arseniger Säure erneut geprüft wurde. Wie nun die Tabelle 19 zeigt, fanden sich zwar nicht bei der ersten, kurz nach Ablauf der Conjugationsepidemie, also noch unter ungünstigen Umständen, vorgenommenen Prüfung, wohl aber bei der zweiten, Anfang November 1912 untersuchten Probe in den aus den Exconjuganten hervorgegangenen Zuchten eine Anzahl von Paramäcien, die nicht nur die 1,1 proz., sondern sogar noch eine 1,5 proz. Lösung der verwandten arsenigen Säure aushielten, ohne Schaden zu nehmen, während die unter gewöhnlichen Bedingungen weitergeführten Infusorien auch bei dieser Prüfung durch eine 1,1 proz. Lösung sämtlich abgetötet wurden.

Von den in der 1,5 proz. Lösung überlebenden Infusorien aus in arsenfreiem Salatwasser angelegte Kulturen erwiesen sich im November 1912, Januar, Februar und März 1913 wiederum gegenüber einer 1,25 proz. arsenigen Säurelösung vollständig, gegenüber einer 1,5 proz. zum großen Teile resistent.



Ähnlich waren die Ergebnisse, die ich im Jahre 1913 bei einer aus dem Grunewaldsee bei Berlin isolierten Individuallinie von *Paramaecium aurelia* erhielt, die aber in einigen Punkten noch genauer kontrolliert werden konnten. Diese Linie g wurde in Liebig's Fleischextraktbouillon gezüchtet und bei den Prüfungen im April 1913, ebenso im Mai, Juni und Oktober gleichen Jahres stets durch eine 1proz. Lösung meiner arsenigen Säure restlos abgetötet. Schon im April 1913 wurde in einer Abzweigung eine Conjugationsepidemie hervorgerufen. Auf der Höhe der Conjugation wurde nun ein Teil der Kultur in ein großes Uhrsälchen gegossen, sämtliche Einzeltiere daraus mit einer Pipette entfernt und gesondert aufgesammelt, während die conjugierenden Pärchen, 70 bis 80 an der Zahl, in ein frisches Kulturglas mit 0,025proz. Bouillonlösung kamen. Nach Ablauf der Conjugationsepidemie in diesem letztgenannten Glase entnahm ich nun den beiden Kulturen sowie zur Kontrolle auch aus der ohne Conjugation geführten Ausgangszucht g Proben und prüfte ihre Widerstandsfähigkeit gegenüber arseniger Säure: Die Tabelle 20 lehrt uns nun, daß auch in diesem Falle ein erheblicher Unterschied in dem Verhalten der aus den Exconjuganten hervorgegangenen Kultur gegenüber den Paramäcien des gleichen Klones bestand, die keine Conjugation durchgemacht hatten: Während die Ausgangskultur g wiederum stets durch eine 1proz. arsenige Säurelösung abgetötet wurde, sehen wir bei den aus den Exconjuganten hervorgegangenen Paramäcien anfangs, bei der ersten Prüfung fünf Tage nach der Conjugation, eine größere Hinfälligkeit (wie sie Exconjuganten nach meinen Erfahrungen ja in der Regel aufweisen), später aber eine Resistenz noch gegenüber einer 1,25proz. Lösung. Auch hier sind es zunächst offenbar nur einzelne Infusorien, die diese erhöhte Widerstandsfähigkeit aufweisen. Werden diese resistenten Individuen dann aber in arsenfreiem Medium weitergeführt, so zeigen sich die gesamten aus ihnen gezogenen Kulturen gegen eine 1,25proz. arsenige Säurelösung widerstandsfähig. Diese erhöhte Widerstandsfähigkeit erhielt sich, wie unsere Tabelle 20 zeigt, nicht nur im Mai und Juni, sondern auch noch im Oktober und Dezember 1913 sowie im Februar 1914; sie blieb auch nach einer zweiten Conjugation bei einer aus Exconjuganten erhaltenen Kultur im April 1914 bestehen. Später wurden keine Prüfungen mehr vorgenommen.

Daß es sich hierbei tatsächlich um Veränderungen handelt, die mit der Conjugation im Zusammenhang stehen, und die nicht etwa nur durch die Milieufaktoren hervorgerufen wurden, die ihrerseits das Auftreten der Conjugationsepidemie bedingten, lehrt uns das

Tabelle 20.

| Stamm und Datum<br>der Versetzung in die<br>Gifflösung | Konzentration der arsenigen Säure |   |      |   |     |   |     |   |     |   |      |   |     |   |           |   |  |  |
|--|-----------------------------------|---|------|---|-----|---|-----|---|-----|---|------|---|-----|---|-----------|---|--|--|
|  | 0,5                               |   | 0,75 |   | 0,9 |   | 1,0 |   | 1,1 |   | 1,25 |   | 1,5 |   | 2,0 Proz. |   |  |  |
|  | a                                 | b | a    | b | a   | b | a   | b | a   | b | a    | b | a   | b | a         | b |  |  |
| G } 8. April 1913                                      | +                                 | + | +    | + | +   | + | +   | + | +   | + | +    | + | +   | + | +         | + |  |  |
| Gc } 26. April nach Conj.)                             | +                                 | + | +    | + | +   | + | +   | + | +   | + | +    | + | +   | + | +         | + |  |  |
| G } 5. Mai   | +                                 | + | +    | + | +   | + | +   | + | +   | + | +    | + | +   | + | +         | + |  |  |
| Gc } 26. Mai   | +                                 | + | +    | + | +   | + | +   | + | +   | + | +    | + | +   | + | +         | + |  |  |
| Gc* } 22. Juni   | +                                 | + | +    | + | +   | + | +   | + | +   | + | +    | + | +   | + | +         | + |  |  |
| G1 } 10. Okt.  | +                                 | + | +    | + | +   | + | +   | + | +   | + | +    | + | +   | + | +         | + |  |  |
| Gc } 14. Dez. 1913                                     | +                                 | + | +    | + | +   | + | +   | + | +   | + | +    | + | +   | + | +         | + |  |  |
| G } 27. Febr. 1914                                     | +                                 | + | +    | + | +   | + | +   | + | +   | + | +    | + | +   | + | +         | + |  |  |
| Gc } 22. April 1914 am 4. April                        | +                                 | + | +    | + | +   | + | +   | + | +   | + | +    | + | +   | + | +         | + |  |  |
| Gc } 29. April nach Conj. am 4. April                  | +                                 | + | +    | + | +   | + | +   | + | +   | + | +    | + | +   | + | +         | + |  |  |

Prüfung der Giftempfindlichkeit von Stamm g bei normaler Zucht ohne Conjugation (G), nach Conjugation (Exconjuganten-zucht Gc) und bei Nachkommen nicht zur Conjugation gelangter Individuen aus der Kultur, in der Conjugationsepидemie hervorgerufen wurde (G1). a = Verhalten 3 Tage, b = Verhalten 7 Tage nach Versetzung in die Gifflösung.

\*) Stamm von den Überlebenden des mit \* bezeichneten Ansatzes vom 5. Mai.

Verhalten der aus den isolierten nicht conjugierenden Einzelindividuen der Conjugationsepидemie-Kultur hervorgegangenen Zuchten. Denn diese Paramácien, die doch den gleichen Milieueinwirkungen ausgesetzt gewesen waren wie die Conjugationspärchen, unterschieden sich, wie die Tabelle 20 zeigt, in ihrem Verhalten gegenüber der arsenigen Säure in keiner Weise von dem die ganze Zeit über gleichmäßig in 0,025proz. Liebig-Fleischextraktbouillon gehaltenen Ausgangsstamm g.

Auch um durch Arseneinwirkungen hervorgerufene Dauermodifikationen, wie wir sie zuvor kennen gelernt haben, kann es sich in diesen Fällen natürlich nicht handeln, da ja die Kulturen vor Auftreten der gefestigten Individuen in arsenfreiem Medium gezüchtet worden waren.

Das gleiche Resultat endlich wurde auch in einer anderen Abzweigung (4) des Stammes g erzielt, in der es im Mai 1913 zu zahlreichen Conjugationen kam. Auch hier wurden auf der Höhe der Conjugationsepидemie die Einzelindividuen von den Pärchen getrennt und beide Teile isoliert aufgezogen. Auch hier zeigte ein Teil der von den Exconjuganten abstammenden Infusorien eine erhöhte Arsenfestigkeit, während auch hier die Nachkommen der nicht zur Conjugation gelangten Paramácien sich in keiner Weise vom Ausgangsstamme g unterschieden (vgl. Tabelle 21).

Diese Veränderungen der Reaktionsnorm innerhalb eines Klones, die sich, wie wir sahen, monatelang unverändert erhielten, und in einem Falle auch eine weitere Conjugation überdauerten, sind von mir 1913, wie erwähnt, als Kombinationen angesprochen worden. Bei dem damaligen Stande unserer Kenntnis von Variabilität und Vererbung bei Infusorien schien keine andere Erklärungsmöglichkeit gegeben. Die inzwischen gewonnenen Erfahrungen über das Auftreten von Mutationen, über die im vorangegangenen Abschnitte berichtet worden ist, haben das Bild allerdings ein wenig verschoben. Wir waren dort zu dem Resultat gekommen, daß in unmittelbarem Zusammenhange mit der Conjugation bei den Paramácien eine besonders sensible Periode besteht, eine Periode, in der es eben relativ leicht zu erblichen Veränderungen der Reaktionsnorm unter dem Einfluß veränderter Außenbedingungen kommt. Man könnte also versucht sein, auch die soeben geschilderten, im Zusammenhange mit einer Conjugation aufgetretenen Steigerungen der Widerstandsfähigkeit gegenüber der arsenigen Säure nicht als Kombinationen, sondern gleichfalls als Mutationen anzusehen. Zwingend widerlegen läßt sich eine solche Anschauung gegenwärtig nicht; wenn mir aber



dennoch meine alte Deutung dieser Abänderungen als Kombinationen, Abänderungen in der Verteilung des Gen-Bestandes bei einer heterozygoten Individuallinie, wahrscheinlicher vorkommt, so läßt sich zugunsten dieser Auffassung zweierlei anführen:

Einmal sind die genannten Änderungen der Reaktionsnorm nicht wie die zuvor erwähnten Mutationen unter veränderten Außenbedingungen entstanden, sondern gerade in dem normalen Kulturmedium bei möglichster Ausschaltung jedes neuen Außenfaktors. (Ich habe mich deswegen hier auch auf diejenigen Fälle beschränkt, bei denen die Conjugaten auch nicht einmal durch ein Umpipettieren beeinflußt werden konnten, da ja die Trennung von den nicht conjugierenden Infusorien eben umgekehrt durch die Entfernung der Einzelindividuen bewerkstelligt worden war.) Zweitens aber ist darauf hinzuweisen, daß derartige Änderungen sich ausschließlich bei Klonen fanden, die frisch aus dem Freien isoliert worden waren oder zum mindesten im Laboratorium noch keine Conjugation innerhalb des Klones durchgemacht hatten. Bei den drei Klonen dagegen ( $\alpha$ , IV und h), in denen zuvor 8 bzw. 6 und 10 Conjugationen innerhalb des Klones erfolgt waren, konnte trotz sorgfältigster, zu wiederholten Malen durchgeführter Prüfung im Laufe der Jahre niemals eine derartige Änderung der Reaktionsnorm im Zusammenhange mit Conjugation bei unveränderten Außenbedingungen festgestellt werden<sup>1)</sup>. Nun liegt es aber auf der Hand, und JENNINGS hat dies vor einigen Jahren genauer ausgeführt, daß mit jeder Conjugation innerhalb eines Klones die Aussicht auf heterozygote Individuen zu stoßen stark abnimmt. Die Deutung der beschriebenen drei Fälle von Änderungen der Reaktionsnorm als Neukombinationen bei einem heterozygoten Klon dürfte somit immer noch die größte Wahrscheinlichkeit für sich haben.

### F. Zusammenfassung.

Der Kreis unserer Beobachtungen und Experimente über Variabilität und Vererbung bei Paramäcien ist mit diesen Feststellungen vorerst geschlossen. Bevor wir nun noch zu einer theoretischen Erörterung der behandelten Probleme und zu einer Diskussion der

<sup>1)</sup> Dieser Umstand, wie auch die im Zusammenhange mit den Temperaturversuchen festgestellte relative Unabhängigkeit der Arsenresistenz von den Variationen der Macronucleusbildung spricht auch durchaus gegen die Deutung dieser Befunde als durch Macronucleusveränderungen bedingte Dauermodifikationen, wie wir sie nach langdauernder Wärmeeinwirkung kennen gelernt haben.

Literatur schreiten, seien die wesentlichsten hier gewonnenen Ergebnisse noch einmal kurz zusammengefaßt:

1. In Übereinstimmung mit JOHANNSEN, JENNINGS und anderen haben wir zunächst bei *Paramaecium caudatum* und *Paramaecium aurelia* das Vorhandensein zahlreicher erblich verschiedener Rassen nachweisen können, und zwar haben wir zu diesem Nachweis neben der sonst üblichen Messungsmethode die Kriterien der Widerstandsfähigkeit gegenüber arseniger Säure und extremen Temperaturen eingeführt.

2. Diese Methoden ermöglichten es uns alsdann, innerhalb von Individuallinien (Klonen) Selektionsversuche in größtem Maßstabe und von größter Intensität durchzuführen. Eine erbliche Verschiebung der Reaktionsnorm eines Klones, die Aufspaltung eines Klones in erblich verschiedene Linien, konnte durch Selektion niemals, auch nicht bei einer Folge von 50 Selektionsstufen, erzielt werden. Dagegen wurde einmal das Auftreten nicht in Selektionsrichtung gelegener erblicher Varianten beobachtet, eine Beobachtung, die für die Deutung abweichender Ergebnisse anderer Untersucher von Wichtigkeit sein dürfte (vgl. S. 124/125).

3. Ebenso wenig wie durch Selektion konnte durch eine allmähliche Gewöhnung an Gifte oder höhere Temperaturen, durch kurze Einwirkung schädigender Giftkonzentration oder extremer Temperaturen oder endlich durch jahrelange Einwirkung einseitig abgeänderter Außenbedingungen während der vegetativen Entwicklungsperiode der Infusorien eine erbliche Umstimmung erzielt werden.

4. Unter dem Einflusse der arsenigen Säure konnten zwar lange anhaltende, unter Umständen über ein halbes Jahr bei vegetativer Vermehrung nachweisbare Veränderungen der Reaktionsnorm hervorgerufen werden. Diese Abänderungen wurden aber ausnahmslos zurückgebildet, langsam bei vegetativer Vermehrung, mit einem Schlage durch eine Conjugation. Es handelt sich somit auch hier um keine Veränderungen der Erbanlagen im strengen Sinne, um keine Mutation, sondern um aufs höchste gesteigerte Nachwirkungserscheinungen, um Modifikationen besonderer Art, für die die Bezeichnung „Dauermodifikationen“ eingeführt wurde.

5. Derartige Dauermodifikationen konnten auch unter dem Einflusse eines Anti-Paramäcienserums, ferner bei langdauernder Einwirkung von Calciumverbindungen sowie von höheren Temperaturen erhalten werden. Die durch das Calcium hervorgerufenen Dauermodifikationen konnten sich sogar über mehrere Parthenogenesis-Perioden und selbst über eine Conjugation hinweg erhalten. Nur



durch Häufung von Parthenogenesen, durch mehrere rasch aufeinander folgende Conjugationen oder durch eine sehr lange Periode vegetativer Vermehrung (bei der es natürlich auch wiederholt zu Parthenogenesis kommt) wurden auch sie vollständig zurückgebildet und eben dadurch ihr Charakter als Dauermodifikationen bewiesen, während die nach langdauernder Wärmeeinwirkung entstandenen Umstimmungen nur im Zusammenhange mit den geschlechtlichen Vorgängen wieder schwanden.

6. Es konnte gezeigt werden, daß die durch Calciumeinwirkung entstandenen Dauermodifikationen auf Veränderungen des Protoplasmas beruhen müssen, die durch langdauernde Wärmeeinwirkung auf Veränderungen von Plasma und Macronucleus.

7. Erbliche Änderungen der Reaktionsnorm, also echte Mutationen, konnten in mehreren Fällen durch Einwirkung abgeänderter Außenbedingungen — arsenige Säure oder erhöhte Temperatur — während der Conjugationsperiode hervorgerufen werden.

8. Durch eine besondere Versuchsanordnung (s. S. 139) konnte gezeigt werden, daß bei unseren Paramäcien eine in diesem Sinne sensible Periode während der letzten Zeit der Conjugationsvorgänge unmittelbar nach dem Auseinandertreten der beiden Conjuganten besteht.

9. Auch während dieser sensiblen Periode wird nur ein geringer Prozentsatz der den abgeänderten Außenbedingungen unterworfenen Paramäcien erblich verändert. Auch im Zusammenhang mit der Parthenogenesis besteht vielleicht eine derartige sensible Periode.

10. In mehreren Fällen konnten im Anschluß an die erste Conjugation frisch isolierter Stämme erbliche Veränderungen der Reaktionsnorm beobachtet werden, die wahrscheinlich als Kombinationen im Sinne BAUR's zu deuten sind, wenngleich auch hier die Entstehung durch Mutation nicht mit Sicherheit ausgeschlossen werden kann.

---

## Allgemeiner Teil.

### I. Variabilität und Vererbung bei Infusorien.

Unsere Beobachtungen und Experimente an Paramäcien erlauben uns somit ein einigermaßen klares Bild von den allgemeinen Variabilitäts- und Vererbungsverhältnissen bei Infusorien zu geben: wir haben gesehen, daß die Variabilität in Populationen in erster Linie auf dem Nebeneinandervorhandensein verschiedener Rassen beruht.

Innerhalb der einzelnen Individuallinien dagegen besteht eine weitgehende Konstanz der erblich übertragenen Eigenschaften. Wir fanden zwar eine beträchtliche Modifizierbarkeit in den verschiedensten Richtungen, Umstimmungen, die zum kleineren Teil durch langsame Gewöhnung, in weit höherem Maße durch schroff wechselnde oder sehr lange einwirkende veränderte Außenbedingungen hervorgerufen werden; aber all diese Veränderungen gehen mit dem Fortfall der modifizierenden Außenfaktoren in der Regel schon sehr rasch wieder verloren. Und in den Fällen, in denen tiefer greifende Umstimmungen hervorgerufen worden waren, sorgten die geschlechtlichen Vorgänge, Conjugation und Parthenogenesis mit den im Zusammenhange mit ihnen offenbar eintretenden intensiveren Umsätzen für ein sofortiges oder doch beschleunigtes Schwinden der abgeänderten Reaktionsnorm. Neben der abgestuften Reihe solcher über kurz oder lang — nicht selten, wie wir sahen, erst nach sehr langer Zeit — abklingenden Umstimmungen treten aber unter dem Einflusse veränderter Lebensbedingungen während der letzten Periode der Conjugation, vielleicht auch der Parthenogenesis, Umwandlungen der Paramäcien auf, die dauernd sowohl bei vegetativer Vermehrung wie auch bei Parthenogenesis und Conjugation bestehen bleiben, somit im strengsten Sinne erbliche Änderungen der Reaktionsnorm darstellen. Und derartige erbliche Umstimmungen, daneben wohl auch Kreuzungen zwischen verschiedenen abgeänderten Formen erklären uns ohne weiteres das zuvor festgestellte Vorhandensein zahlreicher dauernd unterscheidbarer Rassen der gleichen Infusorienart.

Wir sehen somit eine recht weitgehende Übereinstimmung der Variabilitäts- und Vererbungserscheinungen bei den Infusorien mit den bei Metazoen und Pflanzen klargestellten Verhältnissen: hier wie dort kommt es unter dem Einfluß veränderter Außenbedingungen verhältnismäßig leicht zu nicht erblichen Abänderungen, Änderungen des Phaenotypus, Modifikationen. Hier wie dort finden wir weiterhin nur relativ selten, und wohl am ehesten oder vielleicht ausschließlich bei Einwirkung während einer besonders sensiblen Periode, Änderungen, die sich als völlig beständig auch über mehrere Generationen — im strengsten Sinne! — hinweg erweisen, also erbliche Umwandlungen, Änderungen der Gene. Wie wir zuvor von Modifikationen sprachen, so müssen wir in folgerichtiger Übertragung der an dem Verhalten der „höheren“ Organismen ausgebildeten Terminologie, somit auch bei den Infusorien derartige erbliche Abänderungen, aber auch nur sie, als Mutationen bezeichnen.

Was aber bei den Infusorien und den Protisten überhaupt das

Bild zunächst verwirrt und den Vergleich mit den vielzelligen Lebewesen erschwert, sind die Dauermodifikationen, Abänderungen, die sich über viele Teilungsschritte hinweg, unter Umständen auch durch Parthenogenesis und Conjugation hindurch erhalten können, aber doch immer wieder abklingen, also nicht Veränderungen des Genotypus darstellen und sich somit prinzipiell von den Mutationen unterscheiden. Wesen und Bedeutung der Dauermodifikationen und ihre Verbreitung im Organismenreiche werden wir noch etwas eingehender behandeln müssen. Zuvor aber fragt es sich, wieweit die von uns gewonnenen Resultate und Vorstellungen mit den Beobachtungen übereinstimmen, die von anderer Seite bisher über Variabilitäts- und Erblichkeiterscheinungen bei Protisten und besonders auch bei Infusorien mitgeteilt worden sind.

Wie wir schon eingangs hervorhoben, kommen unter den zur Zeit der Inangriffnahme dieser Untersuchung bereits vorliegenden Beobachtungen über Erblichkeitsverhältnisse bei Protisten fast nur die Arbeiten von JENNINGS ernstlich in Betracht. Die meisten anderen Untersuchungen, so auch die interessanten Experimente von POPOFF über künstliche Veränderungen von Infusorien, sind entweder an einem nicht genauer analysierten Ausgangsmaterial, an Populationen, angestellt oder aber nur über eine recht geringe Anzahl von Teilungsschritten hinweg verfolgt worden, können somit von vornherein einer strengeren Kritik nicht standhalten.

Von JENNINGS sind die Variabilitäts- und Erblichkeitsverhältnisse zunächst einmal gerade an unserer Infusoriengattung in verschiedenster Richtung geprüft worden. Wie wir schon wiederholt betonten, konnte JENNINGS dabei als erster zeigen, daß auch bei den Paramäcien zahlreiche unter sich dauernd erblich unterscheidbare Rassen vorhanden sind, eine Feststellung, die wir durchaus bestätigten, allerdings mit der Einschränkung, daß erst nach langer Beobachtungsdauer bei vegetativer Vermehrung sowie durch mehrere geschlechtliche Perioden hindurch dauernde erbliche Unterschiede zwischen verschiedenen Stämmen, also die Aufstellung getrennter Rassen, mit Sicherheit erfolgen kann, da sonst leicht durch längere Zeit zurückliegende differente Außenbedingungen hervorgerufene Dauermodifikationen erbliche Rassenunterschiede vortäuschen können.

Weiterhin zeigte JENNINGS gerade bei Klonen von Paramäcien, daß Selektion innerhalb einer Individuallinie zu keiner Verschiebung der Reaktionsnorm, zu keinem Aufspalten des Klones führt, Feststellungen, die durch unsere ausgedehnten Versuche, neuerdings auch durch eine Arbeit von ACKERT (1916) gleichfalls vollauf bestätigt werden.

Auch die Beobachtungen, die JENNINGS über das Auftreten und Erhaltenbleiben abnormer Formen innerhalb eines Klones machte, stimmen mit unseren Ergebnissen aufs beste überein: sämtliche abweichenden Bildungen schwanden schon bei vegetativer Vermehrung nach einer größeren oder geringeren Anzahl von Teilungsschritten — es handelte sich somit bei ihnen im Sinne unserer Begriffsbestimmung nur um Modifikationen oder Dauermodifikationen. Und Modifikationen oder Dauermodifikationen lagen offenbar den ähnlichen Beobachtungen von SIMPSON und McCLENDON zugrunde, schließlich auch den Befunden von CALKINS über das Auftreten von zwei Micronuclei bei einem Klone von *Paramecium caudatum*; denn auch hier trat stets nach kürzerer oder längerer Zeit eine vollständige Rückkehr zum Verhalten des Ausgangsstammes auf, im Falle von CALKINS vermutlich erst im Anschluß an eine Parthenogenesis. Nirgends kann hier natürlich von erblicher Umbildung, von der Aufspaltung eines Klones die Rede sein.

In weiteren Arbeiten behandelte JENNINGS alsdann die Variabilitäts- und Vererbungsverhältnisse im Zusammenhange mit der Conjugation. Er kam dabei vor allem zu dem Ergebnis, daß durch die Conjugation die Variabilität bedeutend erhöht würde, neue erbliche Varianten entstünden, aber nicht etwa durch Kombination, durch Aufspaltung heterocygoter Erbanlagen, sondern durch irgendwelche noch unbekanntenen Faktoren. Denn diese Steigerung der Variabilität durch Conjugation glaubte JENNINGS nicht nur bei frisch aus dem Freien isolierten Klonen festzustellen (bei denen, wie in unseren Beispielen, die Möglichkeit heterocygoter Erbanlagen natürlich am ehesten gegeben ist), sondern in gleicher Weise auch bei Linien, die bereits zahlreiche Conjugationen in sich durchgemacht hatten, also gerade nach einer von ihm selbst angestellten Berechnung mit größter Wahrscheinlichkeit homocygot sein sollten. Durch die Conjugation werden somit nach JENNINGS stets neue erbliche Varianten erzeugt und damit die Möglichkeit für die Entstehung neuer Rassen, für die Anpassung und Umwandlung der Art gegeben.

Gegen diese seine Feststellungen und Schlüsse läßt sich nun zunächst im Hinblick auf den Charakter der erhobenen Befunde ein prinzipieller Einwand machen, ein Einwand, den ich bereits 1913 (JOLLOS 1913 a) erhoben habe und dem sich dann auch DOBELL (1914) anschloß. JENNINGS bediente sich bei diesen Beobachtungen als Indikators in erster Linie der Teilungsrate, die eben nach seiner Meinung im Zusammenhange mit der Conjugation erblich abgeändert

würde. Betrachten wir aber die von ihm hierzu gegebenen Tabellen, so finden wir, daß die angebliche Erhöhung der Variabilität, die erblichen Varianten, vielleicht mit einer einzigen Ausnahme, auf einer Herabsetzung der Teilungsfrequenz beruhen, auf einer Herabsetzung, die sich allmählich immer mehr verschärft und von einer hohen Sterblichkeitsziffer gerade der neuen Varianten begleitet ist. Eben mit Ausnahme vielleicht einer einzigen Variante scheinen alle von JENNINGS bei diesen Versuchen beobachteten Änderungen der Reaktionsnorm nach relativ kurzer Zeit zum Tode zu führen — oder aber zur Norm zurückzukehren. Ganz offenbar handelt es sich somit bei den angeblichen „erblichen Varianten“ nur um mehr oder weniger tiefe Schädigungen, die die Exconjuganten und ihre Abkömmlinge im Zusammenhange mit der Conjugation erlitten haben, Schädigungen, die bei der von uns schon wiederholt betonten großen Empfindlichkeit der Exconjuganten nicht weiter verwunderlich sind, die aber häufig erst nach einer größeren Anzahl von Teilungsschritten zum Untergange führen. Es ist aber natürlich durchaus unzulässig und muß nur zu einer Verwirrung der ohnehin im Zusammenhange mit der Conjugation recht verwickelten Verhältnisse und der ganzen Variabilitäts- und Erblichkeitsprobleme führen, wenn derartige langsame Absterbeerscheinungen, die bei der Vermehrungsart der Protisten häufig erst im Verlaufe zahlreicher Teilungen voll zur Geltung kommen, mit echten erblichen Umstimmungen, mit Änderungen der Erbanlagen zusammengeworfen werden.

Es scheint mir, daß z. B. STOCKING diesen prinzipiellen Einwand mißverstanden hat: es handelt sich ja nicht um das Auftreten von Abnormitäten, das bzw. dessen Prozentsatz vielleicht erblich fixiert sein könnte (möglicherweise bei den sogleich zu besprechenden Beobachtungen von STOCKING selbst), sondern eben nur um langsame Degeneration!

Aber auch wenn wir von diesem prinzipiellen Einwand gegen JENNINGS' Versuche absehen, lassen sich seine Befunde, auch in dem erwähnten einzigen Falle, in dem bei einer ziemlich frisch aus dem Freien isolierten Individuallinie im Anschluß an die erste Conjugation eine hier anscheinend nicht zum Untergange führende Variantenbildung auftrat, recht gut auf Grund unserer Erfahrungen deuten: 1913 glaubte ich diesen Fall mit den von mir beobachteten und als Kombinationen beschriebenen Variantenbildungen in Parallele setzen, also als Aufspaltung eines Heterocygoten ansprechen zu müssen. Seitdem aber konnten die Feststellungen über das Auftreten von

Dauermodifikationen auf Grund von Macronucleusveränderungen im Zusammenhang mit der Macronucleusneubildung bei den geschlechtlichen Vorgängen erhoben werden und weiterhin der Nachweis der Möglichkeit von Mutationen gerade während der letzten Periode der Conjugation. Im Hinblick auf die von JENNINGS betonte hohe Mortalität seiner Exconjugantenzuchten, im Hinblick ferner auf die von ihm offenbar gleich nach dem Auseinandergehen der beiden Partner einer Parung, also gerade in der sensiblen Periode vorgenommene Isolierung und Umsetzung seiner Exconjuganten gewinnt die Anschauung eine hohe Wahrscheinlichkeit, daß es sich bei der JENNINGS'schen „Variabilitätssteigerung“ im Zusammenhange mit der Conjugation nur um durch äußere Faktoren veranlaßte Abänderungen, sei es nur der Macronucleusbildung (also um Dauermodifikationen), sei es der Erbanlagen (also um Mutation) handelt. Eine von beiden Möglichkeiten muß vorliegen, welche, kann auf Grund der Angaben von JENNINGS nicht mit Sicherheit ersehen werden, da die Beobachtungen nicht hinreichend lange fortgesetzt oder besonders daraufhin geprüft worden sind.

Auch weitere Beobachtungen, die JENNINGS zusammen mit LASHLEY (1913, 1913a) an Exconjuganten erhob, werden uns nun auf Grund unserer Erfahrungen leicht verständlich, und zugleich können wir jetzt auch eine allgemeine Antwort auf die im Anschluß an die Untersuchungen von JENNINGS und LASHLEY schon 1913 von mir aufgeworfenen Fragen geben: Die genannten Forscher prüften das Verhalten der beiden Partner einer Conjugation und konnten feststellen, daß die Übereinstimmung zwischen beiden Exconjuganten in verschiedenster Hinsicht unverhältnismäßig größer war, als bei nichtconjugierenden Paramäcien der gleichen Kultur und weiterhin auch viel größer als bei sog. „split-pairs“, d. h. Individuen, die bereits zur Conjugation zusammengetreten, aber dann vom Untersucher vor Eintritt der Befruchtungsvorgänge gewaltsam getrennt worden waren. In der auffällig großen Übereinstimmung der beiden Conjugationspartner bzw. ihrer Nachkommen erst nach vollzogener Conjugation sieht JENNINGS wohl mit Recht eine Wirkung der Befruchtung und den Nachweis einer Vererbung der Eigenschaften beider Conjuganten.

Nun erhebt sich aber hier folgende interessante Frage, die meinen alten Ausführungen (JOLLOS 1913a, 1920) entnommen sei: „Wenn wir zum Verständnis dieser Feststellung von JENNINGS und LASHLEY die bei der Conjugation sich abspielenden cytologischen Vorgänge heranziehen, wie sie uns durch die Arbeiten von R. HERTWIG

und MAUPAS bekannt geworden sind, so muß alles auf die Wertung der letzten Teilung der Micronuclei in stationären und Wanderkern ankommen — vorausgesetzt natürlich, daß die erbliche Übertragung derartiger Faktoren an die Kerne geknüpft ist. Um mit den experimentellen Feststellungen von JENNINGS übereinzustimmen, muß diese letzte Teilung stets eine „Äquationsteilung“ im vollsten Sinne des Wortes sein, denn dann, aber auch nur dann, wäre eine durch die Conjugation herbeigeführte Übereinstimmung der beiden Paarlinge erklärt: Nennen wir den stationären Kern des einen Conjuganten A, den Wanderkern A1 und entsprechend die Kerne des anderen B und B1, so wäre demgemäß  $A = A1$  und  $B = B1$ , nach vollzogener Befruchtung daher auch immer  $A + B1 = B + A1$ .

Soweit und im Rahmen der erwähnten Beobachtungen von JENNINGS lägen die Verhältnisse ja recht einfach. Eine Schwierigkeit entsteht erst dadurch, daß nach anderweitigen Feststellungen auch nach der Conjugation die Paarlinge resp. ihre Abkömmlinge zum mindesten gelegentlich verschiedene erbliche Anlagen besitzen können. JENNINGS selbst hat in einer früheren Veröffentlichung derartige Beobachtungen erwähnt und in meinem eigenen Material (bei den Exconjugantenzuchten unter verschiedenen Kulturbedingungen) befand sich zum mindesten ein sicherer Fall, in dem die aus den Exconjuganten isoliert gezüchteten Kulturen in verschiedener Hinsicht (Gift- und Wärmeresistenz, Teilungsrate) dauernd voneinander abwichen.

Somit stehen sich zwei offenbar einwandfrei ermittelte Tatsachenkomplexe gegenüber. Um sie dennoch unter sich und mit den cytologischen Feststellungen zu vereinbaren, gibt es — abgesehen von der recht unwahrscheinlichen Annahme, daß die letzte Teilung der Micronuclei nicht immer eine Äquationsteilung darstelle — wohl nur zwei Möglichkeiten:

1. Manche der geprüften „erblichen Anlagen“, speziell auch die Teilungsrate sind nicht nur an die Übertragung der Kerne (Micronuclei) oder wenigstens ihres Determinantenkomplexes geknüpft, sondern auch an das Plasma resp. einen von der sonstigen Genverteilung unabhängigen Faktor. Es könnte also die letzte Kernteilung inäqual und die Übereinstimmung der Exconjuganten von JENNINGS durch das Plasma bedingt sein, oder umgekehrt, die letzte Kernteilung ist äqual — eine auf Grund der bei Ciliaten vorliegenden cytologischen Erfahrungen wahrscheinlichere Annahme — und die gelegentlich beobachteten „dauernden“ Unterschiede von Exconju-

ganten einer Paarung beruhen auf Verschiedenheiten des Plasmas oder sonstiger von der Genverteilung unabhängiger Faktoren.

Oder 2.: Die gelegentlich beobachtete erbliche Verschiedenheit der Exconjuganten beruht nicht auf verschiedener Verteilung der Erbanlagen, sondern auf ihrer nachträglichen Veränderung, also auf Mutation. Dies wäre dann ein Faktor, der auch in einer homozygotischen Individuallinie Umstimmungen und Aufspaltungen bewirken könnte.

Die 1913 in Aussicht gestellte experimentelle Prüfung dieser Möglichkeiten liegt nunmehr vollständig vor. Schon in einer früheren Veröffentlichung (JOLLOS 1920) war im Anschluß an die Schilderung der durch Calciumverbindungen erzielten auf plasmatischen Veränderungen beruhenden Dauermodifikationen darauf hingewiesen worden, daß damit auch im Sinne der ersten hier gezeigten Möglichkeit dargetan ist, daß in der Tat manche anscheinend erblichen Anlagen, und auch gerade die vielgeprüfte Teilungsrate, von plasmatischen Faktoren bedingt bzw. mitbedingt sein kann.

Für eine Erklärung im Sinne der ersten Möglichkeit sprechen aber auch die bei den Wärmebeeinflussungsversuchen erhaltenen, auf Macronucleusveränderungen beruhenden Dauermodifikationen. Bei ihnen lernten wir ja gerade im Zusammenhange mit einer Conjugation leicht auftretende Unterschiede in der Reaktionsnorm von Exconjuganten der gleichen Parung kennen, die gleichfalls nicht auf einer verschiedenen Verteilung der Erbanlagen, sondern eben auf hiervon unabhängigen Faktoren (hier dem Macronucleus) beruhen.

Aber auch für die zweite Möglichkeit, die nachträgliche Veränderung ursprünglich gleicher Erbanlagen, haben wir in unseren Mutationen genügend Beispiele angeführt, und da, wie wir sahen, die für die Auslösung von Mutationen geeignetste Periode eben bei dem Auseinandergehen der Exconjuganten vorliegt, so können im einen oder anderen Falle zwischen Exconjuganten nachzuweisende Unterschiede auf solche, durch die Trennung und Übertragung während der sensiblen Periode bewirkte Mutationen zurückzuführen sein. —

Während somit die Untersuchungen von JENNINGS an Infusorien durchaus mit unseren hier geschilderten Ergebnissen übereinstimmen und sich vor allem auch ganz in den Rahmen der JOHANNSEN'schen Vorstellungen von der Konstanz reiner Linien, von der Ohnmacht der Selektion innerhalb einer reinen Linie fügen, kommen JENNINGS selbst und seine Schüler in einer Reihe während der letzten Jahre veröffentlichter Untersuchungen zu dem gerade entgegengesetzten Ergebnis: Statt einer Ohnmacht der Selektionswirkung innerhalb



eines Klones finden sie jetzt sowohl bei Infusorien wie vor allem auch bei Thecamöben überall unter dem Einflusse fortgesetzter Selektionen erbliche Verschiebungen der Reaktionsnorm und Aufspalten von Klonen bei rein vegetativer Vermehrung.

JENNINGS selbst untersuchte die Variabilitäts- und Erblchkeitsverhältnisse bei *Diffflugia corona*. In verschiedenen Charakteren der Schalenbildung glaubt er besonders günstige Indikatoren für eine Prüfung der Erblchkeitsverhältnisse gefunden zu haben. Zahl und Länge der Stacheln, Durchmesser und Tiefe des Gehäuses, Zahl der Zähnchen und andere derartige morphologische Charaktere sind von ihm aufs gründlichste mit allen Methoden der mathematisch-statistischen Aufnahme geprüft worden. Die Erblchkeit in Populationen wie auch in verschiedenen isolierten Klonen wurde in einer wohl allen Anforderungen dieser Forschungsrichtung mustergültig entsprechenden Weise festgelegt. Ganz wie bei den Infusorien kommt JENNINGS hierbei zur Aufstellung erblich verschiedener Rassen und versucht alsdann durch planmäßige wiederholte Selektionen in entgegengesetzter Richtung Klone zur erblichen Aufspaltung bei vegetativer Vermehrung zu bringen. So wurden die größten und die kleinsten Individuen innerhalb eines Klones isoliert und getrennt weitergezogen, bei anderen Versuchen Individuen mit der größten und der geringsten Stachelanzahl und dergleichen mehr. Nachdem durch zahlreiche Teilungsschritte hindurch diese entgegengesetzte Selektion fortgesetzt worden war, wurden die beiden so erhaltenen Zweige des gleichen Klones ohne Selektion weitergeführt und ihr Verhalten genauer geprüft.

Es ergab sich alsdann bei zahlreichen Klonen und bei den verschiedenst gerichteten Selektionen ein nicht selten recht erheblicher Unterschied zwischen den beiden Zweigkulturen, sowohl wie zwischen jeder von ihnen und dem zuvor für den betreffenden Klon festgelegten mittleren Verhalten. Diese Abänderungen waren auch noch einige Zeit nach Aussetzung der selektiven Zucht bei statistischen Aufnahmen einwandfrei nachzuweisen. Allerdings muß JENNINGS selbst zugeben, daß die erzielten Unterschiede bei solchen Kulturen allmählich etwas zurückgehen. Trotzdem glaubt er, aus seinen Aufnahmen den Schluß ziehen zu müssen, daß bei seinen Versuchen durch Selektion innerhalb von Klonen erbliche Veränderungen und Aufspaltungen hervorgerufen seien, und zwar seien diese Veränderungen, wie eine genauere Prüfung der fortlaufenden statistischen Aufnahmen ergebe, in der Regel nicht auf einzelne innerhalb des Klones zufällig aufgetretene sprungweise Abänderungen (Mutationen) zurückzuführen,

sondern auf eine durch die Selektion bewirkte ständige langsame Verschiebung der Reaktionsnorm.

Sind diese Schlüsse wirklich gerechtfertigt? Ist die erbliche Verschiebung der Reaktionsnorm innerhalb einer sich vegetativ vermehrenden Individuallinie durch die sorgfältigen Beobachtungen und Berechnungen von JENNINGS wirklich bewiesen, und muß daher unsere allgemeine Vorstellung von den Vererbungsverhältnissen und den Artbildungsmöglichkeiten bei Protisten dementsprechend prinzipiell umgestaltet werden? Im Gegensatz zu JENNINGS glaube ich nicht, daß derartige Folgerungen aus seinen Feststellungen gezogen werden dürfen, vielmehr scheinen mir gerade diese neuen Ergebnisse von JENNINGS und seiner Schule ein Beispiel dafür zu sein, wie gefährlich irreführend unter Umständen die einseitig mathematisch-statistische Bearbeitung von Fragen der Variabilität und Artbildung werden kann.

Mancherlei Einwände lassen sich nämlich von vornherein gegen die JENNINGS'schen Untersuchungen erheben: Schon die für die Thecamöben angewandte Kulturmethode erscheint noch unvollkommener und für langdauernde Versuchsserien noch weniger gleichmäßig, als es die — wie wir sahen schon nicht ganz exakten — Zuchtbedingungen für Infusorien sind. Weiterhin wissen wir im Grunde genommen noch gar nichts über die Bedingungen und Abhängigkeiten der Schalenbildungen, Bedingungen, die durch die variationsstatistische Betrachtung natürlich niemals ausreichend aufgeklärt werden können. Wissen wir doch vor allem nichts über die Bedeutung des Chromidiums und seiner Verteilung für die Gestaltung der Schale! Schwerwiegender noch als diese Mängel erscheint aber der Umstand, daß die geschlechtlichen Vorgänge bei den Thecamöben noch gänzlich ungeklärt sind und somit auch von JENNINGS überhaupt nicht in den Kreis seiner Untersuchungen hineingezogen werden konnten. Wie aber unsere Erfahrungen an den Dauermodifikationen der Infusorien klar zeigten, wie ferner auch entsprechende Erscheinungen bei Bakterien und anderen Protisten dartun, darf aus Umstimmungen, die nur bei vegetativer Vermehrung verfolgt werden konnten, eigentlich niemals ein Schluß auf erbliche Veränderung gezogen werden. Weiter noch: selbst für das Verhalten bei vegetativer Vermehrung erscheinen die JENNINGS'schen Feststellungen ganz unzureichend, da sie über eine viel zu kurze Periode ausgedehnt wurden. Es kommt ja gar nicht darauf an, daß mehrere tausend Individuen gemessen und bestimmt wurden, sondern wichtig ist in erster Linie die Zahl der Teilungsschritte. Was will es also

bedeuten, wenn JENNINGS seine Umstimmungen, seine angeblich „erblichen“ Veränderungen eines Klonen bei einem Hauptversuche durch 11 (!) Teilungsschritte hindurch nach Aussetzen der Selektionen verfolgen konnte, wenn wir bei unseren Paramäcien demgegenüber Umstimmungen erzielten, die über Hunderte von Teilungsschritten hinweg erhalten blieben — und doch nur Dauermodifikationen, also keine streng erblichen Veränderungen waren.

Die Möglichkeit des Auftretens genotypischer Veränderungen während der vegetativen Vermehrungsperiode von *Diffugia* soll damit natürlich nicht bestritten werden, solange diese Frage für die Thecamöben nicht genauer klargestellt ist. Warum sollten auch Veränderungen, wie wir sie bei Paramäcien bei der letzten Phase der Conjugation nachweisen konnten, bei einer anderen Protistengruppe nicht auch während einer anderen Lebensperiode auftreten können? Durch JENNINGS' Untersuchungen aber ist eine solche erbliche Umstimmung in keiner Weise zwingend dargetan und noch weniger der Schluß auf eine selektive Aufspaltung von Klonen gerechtfertigt.

Ganz ähnlich wie die Feststellungen von JENNINGS bei *Diffugia* sind die Untersuchungen seiner Schüler HEGNER an *Arcella* und ROOT an *Centropyxis* zu bewerten. Auch sie haben prinzipiell in der gleichen Weise gearbeitet wie JENNINGS; auch sie glauben während des vegetativen Lebens der von ihnen geprüften Formen durch entgegengesetzt gerichtete Selektion bei Zweigzuchten des gleichen Klonen erbliche Unterschiede erzielt zu haben. Auch diese Feststellungen können somit keinerlei Beweiskraft besitzen. Besonders augenfällig erscheint die Unzulänglichkeit dieser Beweisführung bei der Untersuchung von ROOT, bei der in einem Hauptexperiment der durch Selektion erzielte Unterschied nur über höchstens drei Teilungsschritte hinweg verfolgt wurde! Wie wenig sich der Autor ferner über die Notwendigkeit der Prüfung angeblich erblicher Abänderungen zum mindesten über eine geschlechtliche Periode hinweg klar war, geht aus seiner Bemerkung hervor, daß eine Versuchsserie abgebrochen werden mußte, da . . . eine Sexualitätsepidemie in seinen Kulturen auftrat.<sup>1)</sup>

Die Untersuchungen der JENNINGS'schen Schule an Thekamöben haben somit offenbar zu keiner weiteren Klärung der Erblichkeitsfragen bei Protisten geführt, sondern eher noch dazu beigetragen, das Bild zu verwirren. Es muß überhaupt zweifelhaft erscheinen,

<sup>1)</sup> Bei dieser „Sexualitätsepidemie“ dürfte es sich vermutlich nur um Plasmogamien gehandelt haben, da wir ja wirkliche Befruchtungsvorgänge bei dieser ganzen Gruppe noch nicht mit Sicherheit kennen.

ob die von JENNINGS hervorgehobene besondere Eignung dieser Protistengruppe für Vererbungsuntersuchungen (wegen des Besitzes fester Schalen mit mannigfachen stark variierenden Charakteren) vorläufig zur Geltung kommen kann, solange wir noch so wenig über den Lebensgang, die Bedeutung verschiedener intracellulärer Strukturen und über die Bedingungen der Schalenbildung Sicheres wissen. Was nützen die sorgfältigsten Messungen, wenn sie auf irrigen Voraussetzungen aufgebaut sind, so wenn HEGNER z. B. Beziehungen zwischen Schalenbildung und Chromatinmenge auf Grund von Messungen des Caryosoms nachweisen will — obgleich bei seinem Untersuchungsobjekt das Chromatin sich überhaupt nicht im Caryosom, sondern im Außenkern befindet!

Nirgends ist also in diesen Arbeiten eine wirklich erbliche Abänderung eines Klones dargetan. Sämtliche von JENNINGS und seinen Schülern beobachteten Umstimmungen der Reaktionsnorm bei Thecamöben erscheinen somit nur als Modifikationen oder Dauermodifikationen und sind daher ohne weiteres in den Rahmen der bei unseren Untersuchungen an Infusorien gewonnenen Anschauungen einzufügen.

Das gleiche gilt aber auch von den neueren Arbeiten der JENNINGS'schen Schule an Infusorien. STOCKING (1915) untersuchte bei *Paramecium* das Auftreten von Abnormitäten, wie sie im Anschluß an eine Conjugation nicht selten zu beobachten sind und gelegentlich bereits von JENNINGS beschrieben wurden. Durch Isolierung und getrennte Weiterzucht derartiger innerhalb eines Klones auftretender abnormer Bildungen glaubt sie gleichfalls Aufspaltungen von Klonen erreicht zu haben, wobei die einzelnen Zweige sich vor allem durch den Prozentsatz der auftretenden Monstrositäten unterschieden. Wie wir schon zuvor erwähnten, könnte natürlich an sich dies Verhalten durch eine genotypische Veränderung hervorgerufen worden sein, die dann aber wohl bei der letzten Conjugation oder Parthenogenesis zustande kam und durch die Selektion nur herausisoliert worden ist. Weit näher liegt aber natürlich die Vermutung, daß es sich bei den Monstrositäten um eine Wirkung abnorm ausgebildeter Macronuclei handelt, wie wir sie bei unseren Wärmeversuchen kennengelernt haben. Sahen wir doch, daß abweichende Macronucleusbildung mit allen ihren Konsequenzen nur bei einem Teil der Nachkommen eines Exconjuganten oder eines durch die Parthenogenesis hindurchgegangenen Individuums auftreten, sich lange erhalten, oder sogar nach dem Schwinden von neuem zum Vorschein kommen kann. Es würde sich also auch in diesem Falle

am ehesten um eine auf Macronucleusveränderungen und nicht auf genotypischer Umstimmung beruhende Änderung der Reaktionsnorm handeln. Ebenso wenig wie die Angaben von JENNINGS über Variantenbildung bei der Conjugation von *Paramecium* lassen aber die Tabellen von Miß STOCKING eine sichere Entscheidung zu, da einmal die Beziehungen der Abnormitätenbildung zur Parthenogenese nicht geprüft und ferner die Feststellungen nur über eine recht geringe Zahl von Teilungsschritten (in keinem Falle auch nur 50) verfolgt worden sind. Nach all unseren Erfahrungen dürften also auch bei diesen Beobachtungen nur Dauermodifikationen vorliegen.

Interessante Umstimmungsversuche hat endlich MIDDLETON (1915) an *Stylonychia pustulata* durchgeführt. Er isolierte innerhalb eines Klones stets die sich am raschesten und die sich am langsamsten teilenden Individuen und zog sie unter entsprechend fortgesetzter Selektion längere Zeit parallel weiter. Wurde alsdann das Verhalten der so gewonnenen beiden Zweigkulturen nach Aussetzen der Selektion geprüft, so ergaben sich während längerer Zeit nachweisbare beträchtliche Unterschiede der Teilungsintensität zwischen den Abkömmlingen beider Zweige. Stets wiesen Abkömmlinge des auf Teilungsbeschleunigung hin gezüchteten Zweiges eine wesentlich größere Teilungsfrequenz auf, als die Abkömmlinge des anderen Teiles, bei dem durch wiederholte Selektion stets nur die sich am langsamsten vermehrenden Infusorien fortgezüchtet worden waren. Dieser Unterschied hielt sich nicht nur bei vegetativer Vermehrung, sondern auch nach einer Conjugation, so daß MIDDLETON den Schluß zieht, daß hier durch wiederholte bestimmt gerichtete Selektion erbliche Umstimmungen hervorgerufen worden seien.

Gewiß ist dieser Schluß berechtigter als bei allen anderen neueren Arbeiten der JENNINGS'schen Schule, da hier eben auch das Verhalten der Abänderung nach einer Conjugation geprüft wurde. Nach unseren Erfahrungen an den durch Calciumverbindungen sowie durch langdauernde Wärmeeinwirkung hervorgebrachten Dauermodifikationen verlieren aber auch diese MIDDLETON'schen Feststellungen für das Hauptproblem, die Frage nach dem Zustandekommen von erblichen Veränderungen durch Selektion, ihre Beweiskraft. Haben wir doch unter den genannten Bedingungen Änderungen der Reaktionsnorm kennen gelernt, die sich durch Parthenogenesen und Conjugationen hindurch unverändert erhalten konnten — und doch gleichfalls nur Dauermodifikationen, also keine Änderungen der Erbanlage darstellten. Auch MIDDLETON's Umstimmung dürfte nach unseren Erfahrungen somit auf Änderungen des Plasmas oder

des Macronucleus beruhen und nur ein weiteres Beispiel für die Möglichkeit des Erhaltenbleibens derartiger nicht im strengsten Sinne erblicher Umstimmungen über eine Conjugation hinweg zeigen. Weitere Verfolgung der abgeänderten Formen hätte dies wohl bald ergeben, leider hat aber MIDDLETON diese seine Versuchsserie nach der Conjugation nicht mehr lange beobachtet. Vor allem fehlen ferner auch bei seinen Untersuchungen irgendwelche Feststellungen über einen Zusammenhang mit etwaigen parthenogenetischen Prozessen.

An dieser Stelle sei noch auf ein weiteres Beispiel des Erhaltenbleibens während des vegetativen Lebens zustandekommender Veränderungen über die geschlechtlichen Vorgänge hinweg hingewiesen: bei soeben erschienenen Untersuchungen über die Lebensfähigkeit von *Uroleptus mobilis* fand CALKINS (1920), daß die Vitalität der Zuchten wesentlich von dem Alter abhängt, in dem die Conjugation stattfindet.

Bei dieser Art besteht nach CALKINS anscheinend eine Befruchtungsbedürftigkeit, derart, daß bei länger fortgesetzter vegetativer Vermehrung die Lebensfunktionen allmählich herabgesetzt werden und die Infusorien schließlich absterben müssen, wenn keine Conjugation erfolgen kann. Der Conjugation kommt somit nach der Meinung des Verfassers eine verjüngende Wirkung zu, deren Grad aber mit von dem Umstande abhängt, ob der Befruchtungsprozeß nach einer kürzeren oder längeren Periode vegetativer Vermehrung erfolgt ist. Es werden also in diesem Falle die während des vegetativen Lebens sich summierenden Schädigungen, mögen wir sie uns nun als Anhäufung von Stoffwechselprodukten oder in irgendeiner anderen Weise vorstellen, auch durch die Conjugation nicht immer völlig beseitigt. Wir haben hier somit einen schönen Parallelfall zu unseren gleichfalls die Conjugationen mitunter überdauernden durch Calciumeinwirkung hervorgerufenen Umstimmungen der Reaktionsnorm von Paramäcien. Und ebenso wie in unserem Falle kann auch bei *Uroleptus* die durch die Conjugation nicht ausgeschaltete Nachwirkung nur auf plasmatische Veränderungen zurückgeführt werden, wie dies auch CALKINS gelegentlich äußert.

In diesem Zusammenhange verdient auch die Beobachtung von PROWAZEK Erwähnung, daß gegen Saponin gefestigte Klone von *Colpidium* die erworbene Festigung nicht nur lange Zeit bei vegetativer Vermehrung, sondern auch über eine Conjugation hinweg festhalten können. Da, wie PROWAZEK selbst hervorhebt, das Saponin als Plasmagift zu betrachten ist, so wird man auch in der erzielten Festigung eine durch Veränderungen des Plasma bedingte Dauermodifikation erblicken müssen.

Hatten wir bei den letztgenannten Beobachtungen von MIDDLETON und vor allem von PROWAZEK und CALKINS Feststellungen kennen gelernt, die den auf plasmatischen Veränderungen beruhenden Dauermodifikationen unserer Paramäcien entsprachen, so finden wir in einer weiteren schon früher erwähnten Untersuchung von MIDDLETON (1918) Beobachtungen, die mit unseren Ergebnissen an durch langdauernde Temperatureinwirkungen hervorgerufenen Veränderungen im Prinzip übereinstimmen. Ganz ebenso wie wir bei unseren Paramäcien hat MIDDLETON bei unter verschiedenen Temperaturbedingungen geführten Zweigen des gleichen Klones von *Stylonychia* nach Zurückversetzung in die gleiche Temperatur Unterschiede der Teilungsrate nachweisen können. Nach 20 Tagen differenter Temperatureinwirkungen auf verschiedene Zweigkulturen zeigten die zuvor bei höherer Temperatur gehaltenen Zuchten auch bei mittlerer Temperatur eine größere Teilungsfrequenz als die zuvor bei niedriger Temperatur gezogenen. Nach 37 tägiger Weiterführung beider Zweige unter den gleichen Bedingungen waren die Unterschiede aber wieder völlig geschwunden. Die Veränderungen entsprechen also durchaus den von uns bei *Paramecium* als typisch beschriebenen Modifikationen und Regulationen bei Temperaturwechsel. Anders war das Verhalten, wenn die beiden Zweigkulturen wesentlich längere Zeit der differenten Temperatureinwirkung ausgesetzt worden waren. Nach 40 Tagen vermehrten sich bei Zurückversetzung in die gleiche mittlere Temperatur die zuvor bei höherer Temperatur gehaltenen Zuchten merklich langsamer als die aus der Kälte in die mittlere Temperatur zurückgebrachten Infusorien. Dieser Unterschied blieb auch bei weiterer Fortführung der Zucht bestehen, doch konnten die Prüfungen nicht über eine längere Zeitperiode hinweg fortgesetzt werden, da die bei höherer Temperatur gehaltenen Zweige nach einigen Monaten ausstarben. Obwohl MIDDLETON selbst klar erkennt, daß die Herabsetzung der Teilungsrate bei den in höherer Temperatur gehaltenen Kulturen offenbar auf unter diesen Bedingungen hervorgetretenen schweren Schädigungen seiner Infusorien beruhte, Schädigungen, denen alle Zuchten nach relativ kurzer Zeit vollständig erlagen, so glaubt er merkwürdigerweise dennoch, auch bei diesen Experimenten wirklich erbliche Umstimmungen und die Aufspaltung eines Klones erzielt zu haben, ein Schluß, der uns ganz unzulässig erscheint. Denn ganz wie bei den zuvor behandelten JENNINGS'schen Varianten nach einer Conjugation handelt es sich bei den erblichen Veränderungen in MIDDLETON's Versuchen ausschließlich um langsame Degenerations- und Absterbe-

erscheinungen, Degenerationserscheinungen, die eben, wie immer wieder betont werden muß, unter den besonderen Fortpflanzungsverhältnissen der Protisten häufig erst im Verlaufe von zahlreichen Teilungsfolgen voll zur Wirkung gelangen können. Ganz wie bei unseren entsprechenden Versuchen an *Paramäcien* dürfte es sich auch hier um Veränderungen des Plasmas, vielleicht auch des *Macronucleus* unter der Einwirkung der höheren, in MIDDLETON'S Falle für den betreffenden Stamm eben allzu hohen Temperatur handeln.

Auf solche Schwankungen der Beschaffenheit der *Macronuclei* sind wohl mit größter Wahrscheinlichkeit auch die Verschiedenheiten zurückzuführen, die von CALKINS und GREGORY (1913) bei Abkömmlingen eines und desselben *Exconjuganten* von *Paramaecium caudatum* beschrieben wurden. CALKINS und GREGORY isolierten die aus den beiden ersten Teilungen eines *Exconjuganten* hervorgegangenen vier Tochterindividuen und zogen sie getrennt unter gleichen Bedingungen auf. Es ergab sich bei diesen Untersuchungen, daß zwischen so gewonnenen vier Stämmen und ferner auch zwischen durch weitere Teilung eines jeden solchen „Quadranten“ erhaltenen Zweigkulturen in verschiedenster Hinsicht Unterschiede bestehen können, Unterschiede der Größe, der Vitalität und der Conjugationsfähigkeit, die sich lange Zeit hindurch bei getrennter Weiterzucht unter gleichen Bedingungen erhalten können.

Diese Ergebnisse erinnern natürlich in erster Linie an das Verhalten unserer auf Veränderungen des *Macronucleus* zurückgeführten Umstimmungen nach langer Wärmeeinwirkung. Denn ganz wie CALKINS und GREGORY konnten ja auch wir unter den Abkömmlingen des gleichen *Exconjuganten*, weiterhin aber auch unter den Abkömmlingen eines durch die Parthenogenese hindurchgehenden *Paramaeciums* Unterschiede nachweisen. Gerade der Vergleich des Verhaltens der einzelnen Parallelzweige nach Conjugation und Parthenogenese und die weitere Verfolgung der Unterschiede durch mehrere solcher geschlechtlichen Perioden hindurch, ermöglichten es uns aber, den Nachweis zu führen, daß es sich auch hierbei nicht um Änderungen der Erbanlage, nicht um eine Umstimmung der *Macronucleusbildungspotenz* des *Micronucleus* handelte, sondern um ihre durch veränderte Außenbedingungen, vor allem auch durch ein verändertes Plasma abweichend beeinflusste Realisierung. Die von CALKINS und GREGORY herangezogenen Indikatoren werden offenbar durch solche Varianten des ausgebildeten *Macronucleus* unmittelbar betroffen; andererseits zeigen uns aber die Beobachtungen der genannten Forscher, daß auch schon unter „normalen“ Zuchtbedingungen



Schwankungen des Charakters des vom gleichen Micronucleus aus gebildeten Macronucleus vorkommen, Schwankungen, die wir durch einseitig abgeänderte Außenfaktoren wohl sinnfälliger machen konnten, die aber im geringeren Grade, wie schon die von uns erwähnten Schwankungen der Größe nach Conjugation zeigten, bei *Paramaecium* auch bei den gleichmäßigsten hier möglichen Kulturbedingungen auftreten können und damit die Verwertung aller von der Beschaffenheit des Macronucleus unmittelbar abhängigen Charaktere für Fragen der Vererbung wesentlich erschweren.

Ganz ähnlich wie bei den Beobachtungen von CALKINS und GREGORY liegen die Verhältnisse vielleicht bei den von uns schon erwähnten, erst während der Fertigstellung dieser Arbeit erschienenen Untersuchungen von ERDMANN (1920).

RH. ERDMANN legte sich die Frage vor, ob durch die Parthenogenesis („Endomixis“ nach ihrer Nomenklatur) eine Umänderung der Reaktionsnorm, die Aufspaltung eines Klones hervorgerufen würde. Bei ihrer Prüfung bediente sie sich ausschließlich der von JENNINGS eingeführten Meßmethoden, die sie aber (vgl. S. 12) durch Berücksichtigung der Parthenogenesisperioden exakter gestaltete. Im Verlaufe der Parthenogenesis isolierte sie nun einzelne Individuen der Zählkultur eines zuvor genau geprüften Klones entweder bei der Teilung im sogenannten „Klimax“-Stadium des parthenogenetischen Prozesses, oder aber, bei einer zweiten Versuchsserie, unmittelbar nach der auf das Klimaxstadium folgenden Infusorien- teilung. Der Unterschied bei der einen und der anderen Versuchsserie besteht darin, daß bei der „Klimax“-Teilung Individuen getrennt werden, die noch keine neue Macronucleusanlage besitzen, während bei der späteren Teilung in jedem der aus ihr hervorgehenden Paramácien eine Macronucleusanlage bereits gebildet ist. Das Resultat war nun bei den beiden Versuchsreihen ein verschiedenes. Während die nach der zweiten Teilung isolierten Paramácien resp. ihre Nachkommen keinerlei oder doch nur unerhebliche und sich allmählich immer mehr ausgleichende Unterschiede gegenüber dem normalen Verhalten des Klones aufwiesen, traten bei den Nachkommen der im unmittelbaren Anschluß an die erste Durchschnürung isoliert aufgezogenen Infusorien nicht unbeträchtliche Abweichungen zutage, und zwar sowohl unter sich wie auch gegenüber dem vor dieser Parthenogenesis festgestellten Verhalten des untersuchten Klones. RH. ERDMANN ging in der Weise vor, daß sie die aus der Teilung hervorgegangenen beiden Infusorien sich jedes für sich noch ein bzw. zweimal oder noch häufiger teilen ließ; von den auf diese Weise

gewonnenen sechs Individuen wurde eines für die cytologische Untersuchung abgetötet, die fünf anderen dienten, ein jedes getrennt aufgezogen, als Ausgangspunkt für fünf gesonderte Kulturen. Eine Prüfung und ein Vergleich dieser fünf Kulturen unter sich und mit dem in gewöhnlicher Weise geführten Ausgangsstamm ergab, daß während der Ausgangsstamm eine mittlere Länge von 41,224 Einheiten besaß (die mittlere Breite wollen wir hier übergehen, da sie für uns keinerlei prinzipielle Bedeutung besitzt), eine der isolierten Kulturen eine Länge von 42,695 aufwies, zwei andere 37,508 bzw. 37,708, die beiden letzten endlich 39,941 und 39,625. Es waren demnach zwei Gruppen zu unterscheiden, die eine, durch den zuerst genannten Stamm vertreten, erschien etwas größer als die Ausgangslinie; sie war auf das eine der bei der ersten Teilung gebildeten Infusorien zurückzuführen, während die von den vier übrigen Kulturen repräsentierte zweite, gegenüber der Norm nicht unerheblich kleinere, Gruppe auf das andere bei der ersten Teilung entstandene *Paramaecium* zurückging. Diese Unterschiede in der Länge blieben nun, wie die weiteren Feststellungen ergaben, soweit die genannten Kulturen überhaupt unter Kontrolle weitergeführt werden konnten, während ungefähr 100 Teilungsschritten und über eine zweite Parthenogenese hinweg erhalten. Bei einer zweiten Parthenogenese, in der größten der zuvor erwähnten fünf Kulturen mit einer Durchschnittslänge von 42,695 Einheiten, trat bei in gleicher Weise wie oben geschildert isolierten Subkulturen eine größte Linie mit einer Durchschnittslänge von 45,225 und eine kleinste mit durchschnittlich 41,695 Maßeinheiten auf, neben anderen, die sich kaum von 42,695 unterschieden. Auch in diesem Falle könnte man also von einer Aufspaltung der nach der Parthenogenese isoliert aufgezogenen Paramäcien sprechen. Soweit die von RH. ERDMANN mitgeteilten tatsächlichen Befunde. Die Untersucherin glaubt sich damit zu dem Schlusse berechtigt, daß durch jede Parthenogenese eine Aufspaltung des Klones in verschiedene erbliche Varianten erfolgt. Denn „wenn es möglich war, die Linie für annähernd 100 Teilungsschritte zu differenzieren, so ist es auchmöglich, diese Differenzierung weiter fortzusetzen“.

Bei jeder Parthenogenese soll somit nach ERDMANN eine Aufspaltung des Klones in mehrere erblich verschiedene Linien erfolgen und die Konstanz von Klonen, wie sie wiederholt bei jahrelangen Prüfungen von verschiedenen Untersuchern und auch in dieser neusten Arbeit von der Verfasserin selbst festgestellt worden ist, nur darauf beruhen, daß unter den gewöhnlichen ohne ständige Isolierung geführten Klonzuchten sich immer nur die an diese

gleichmäßig bleibenden Kulturbedingungen am besten angepaßte Variante hält.

Wie stimmen nun diese Beobachtungen und Anschauungen mit unseren Erfahrungen überein? Die tatsächlichen Befunde von ERDMANN lassen sich zum größten Teile ohne weiteres mit mancher unserer hier mitgeteilten Feststellungen in Parallele setzen. Ihr Vorgehen bei dem Nachweise der Varianten entspricht ja durchaus der von CALKINS und GREGORY bei der Conjugation und dann von mir nach Conjugation und Parthenogenesis verfolgten Methode der isolierten Aufzucht der aus den ersten Teilungen von Exconjuganten oder im Verlaufe der Parthenogenesis entstandenen Individuen. Das Auftreten von Unterschieden in so erhaltenen Parallelzuchten des gleichen Klones kann uns an sich also nicht wundernehmen, mußten wir doch schon aus unseren alten Beobachtungen sowie denen von CALKINS und GREGORY den Schluß ziehen, daß eben auch bei sogenannten „normalen“ Milieubedingungen vom genotypisch gleichen Micronucleus aus innerhalb gewisser Grenzen schwankende Macronucleusvarianten gebildet werden können. Und da RH. ERDMANN ja wiederum nur die Größe der Infusorien, also einen, wie schon die alten Arbeiten der HERTWIG'schen Schule zeigten, vom Macronucleus abhängigen Charakter geprüft hat, so wäre von vornherein am ehesten anzunehmen, daß es eben auch bei ihren Beobachtungen sich um die gleichen Erscheinungen handelte, wie in den Untersuchungen von CALKINS und GREGORY nach Conjugation und von mir bei den langandauernden Temperaturbeeinflussungen. Trifft dies zu, so muß aber erwartet werden, daß solche Unterschiede nach längerer oder kürzerer Zeit wieder schwinden, vor allem aber, daß sie nicht nur bei der Isolierung nach der Klimaxteilung, sondern in gleicher Weise auch bei Trennung erst nach der nächstfolgenden Durchschnürung nachweisbar sind, wie dies bei meinen Versuchen der Fall war. ERDMANN betont jedoch gerade, daß Isolierung und Trennung nach dieser zweiten Teilung zu keiner Aufspaltung mehr führt. Daß in dieser Behauptung ein gewisser innerer Widerspruch mit ihren sonstigen Anschauungen von dem Zustandekommen erblicher Unterschiede bei jeder Parthenogenesis gegeben ist, scheint ihr nicht klar geworden zu sein. Auch die bei der späteren Teilung isolierten Paramácien haben doch notwendigerweise die gesamte Entwicklung in gleicher Weise durchgemacht, wie die schon einen Teilungsschritt früher isolierten Infusorien desselben Klones. Warum kam es bei ihnen nie zum Auftreten nachweisbarer erblicher Veränderungen der Reaktionsnorm gegenüber dem Verhalten des Ausgangsstammes?

RH. ERDMANN bleibt uns in ihrer Arbeit die Antwort hierauf schuldig.

Können wir nun auf Grund unserer Beobachtungen an dem gleichen Objekte zu einer Erklärung ihrer Ergebnisse kommen? — Wir haben bisher einen Vergleich nur mit den auf Macronucleusvariationen beruhenden Dauermodifikationen gezogen. Sollte es sich aber bei den ERDMANN'schen Beobachtungen nicht vielleicht um Mutationen handeln? Die Verfasserin betont ja, daß erbliche Veränderungen ihres Klones nur in dem Falle nachweisbar waren, daß eine Isolierung und getrennte Zucht während eines ganz bestimmten Stadiums der Parthenogenesis vorgenommen wird. Dieses Stadium aber entspricht ganz offenbar der von uns im Zusammenhange mit der Conjugation festgestellten besonders sensiblen Periode. Denn die Isolierung mußte vor der Bildung der neuen Macronucleusanlage erfolgen, ein Moment, dem bei der Conjugation die Zeit unmittelbar nach dem Auseinandergehen der Exconjuganten entspricht. Da wir nun gerade in dieser Zeit, und nur in dieser Zeit, durch äußere Einflüsse Änderungen der Erbanlage, Mutationen, hervorrufen konnten, so ist der Verdacht nicht von der Hand zu weisen, daß bei den Aufspaltungen in den Versuchen von RH. ERDMANN, gleichfalls Mutationen vorliegen, genotypische Veränderungen, die durch den Akt des Übertragens oder durch geringfügige Unterschiede der chemischen Bedingungen im neuen Kulturgläse hervorgerufen sein könnten. Nur auf diese Weise erscheint das Auftreten von Veränderungen allein bei Isolierung in dem von der Verfasserin angegebenen Stadium verständlich, sonst müßten sie unter allen Umständen auch noch bei späteren Trennungen nachweisbar sein.

Somit gibt es für die von RH. ERDMANN beschriebenen erblichen Veränderungen im Zusammenhange mit einer Parthenogenesis zweierlei Erklärungsmöglichkeiten: Entweder es treten Unterschiede tatsächlich nur bei Isolierung im Stadium der Klimaxteilung auf — dann kann es sich nur um genotypische Umstimmungen während der sensiblen Periode, also um echte Mutationen wie in unseren Versuchen handeln. Dann aber kann natürlich auch nicht von der allgemeinen Gültigkeit dieser Erscheinungen, von ihrem notwendigen Auftreten bei jeder Parthenogenesis die Rede sein, sind es dann doch, wie bei unseren Experimenten, durch geringfügige Veränderungen äußerer Faktoren während der sensibelsten Periode hervorgerufene Mutationen.

Oder aber: es handelt sich, wie die Verfasserin annimmt, um im Zusammenhange mit jeder Parthenogenesis auftretende Er-

scheinungen — dann sind die Varianten auf Schwankungen in der Beschaffenheit der vom genotypisch gleichen Micronucleus aus gebildeten Macronuclei zurückzuführen, dann aber müssen Varianten ebensogut auch bei Isolierung nach der nächstfolgenden Teilung feststellbar sein. Vor allem aber handelt es sich dann auch nicht um wirklich erbliche Veränderungen, um dauernde Aufspaltungen eines Klones, sondern, wie bei unseren Wärmebeeinflussungsversuchen wiederum nur um Dauermodifikationen.

Die Entscheidung darüber, welche dieser beiden Möglichkeiten tatsächlich vorlag, läßt sich auf Grund der ERDMANN'schen Angaben noch nicht mit Sicherheit fällen. Denn ebensowenig, wie es zulässig erscheint, aus der Feststellung derartiger Varianten bei einem einzigen Klone, und auch das nur bei einigen wenigen Parthenogeneseperioden, auf ihr notwendiges Auftreten bei jeder Parthenogenese zu schließen, ebensowenig ist die ERDMANN'sche Schlußfolgerung: „wenn es möglich war, die Linie für annähernd 100 Teilungsschritte zu differenzieren, so ist es auch möglich, diese Differenzierung beliebig weiter fortzusetzen“ berechtigt, wird doch gerade durch unsere Beobachtungen an den auf Macronucleusveränderungen beruhenden Dauermodifikationen die Notwendigkeit einer wesentlich länger fortgesetzten Beobachtungsdauer wohl einwandfrei dargetan.

Wenn also auch die Entscheidung für die eine oder andere der genannten beiden Möglichkeiten an Hand des von RH. ERDMANN gegebenen Materiales noch nicht endgültig getroffenen werden kann, so sprechen doch die bei unseren Versuchen gewonnenen Erfahrungen und der Umstand, daß die Untersucherin bei drei Parthenogeneseperioden hintereinander derartige Variantenbildung erhielt, ferner auch die von ihr selbst in ihrer deutschen Zusammenfassung ohne nähere Begründung schon fast zugegebene Möglichkeit des Varianten nachweises auch nach der zweiten Teilung für die zweite Deutung für den Zusammenhang dieser Veränderungen mit Schwankungen der Macronucleusausbildung, somit für ihren Charakter als Dauermodifikationen.

RH. ERDMANN selbst stellt ihre Ergebnisse mit den von JENNINGS und seinen Schülern bei Thecamöben angeblich durch Selektion erzielten und von uns zuvor besprochenen Klonaufspaltungen in Parallele. Diese Parallelsetzung ist dann auch nach unserer Auffassung durchaus gerechtfertigt — nur handelt es sich hier wie dort nicht um erbliche Umstimmungen, um Änderungen der Gene, sondern nur um phänotypische Veränderungen, um Modifikationen und Dauermodifikationen. Erblich festgelegt ist eben, soweit wir

bisher sehen können, bei den Thecamöben nicht eine bestimmte Schalengröße, eine bestimmte Zahl der Stacheln oder Zähnchen und ebenso bei den Paramäcien nicht ein ganz bestimmter Macronucleus, sondern hier wie dort nur Anlagen der Schalenbildung. Macronucleusbildungspotenzen des Micronucleus, deren Realisierung innerhalb gewisser Grenzen von mancherlei teils äußeren, teils im Plasma der betreffenden Protisten gegebenen Faktoren abhängt, deren phänotypischer Charakter also einen Schwan-  
kungsspielraum aufweist. —

Der Kreis der neueren Untersuchungen über Variabilität und Vererbung bei Protisten wäre damit im wesentlichen geschlossen. Wohl liegen noch zahlreiche Beobachtungen über Umstimmungen der Reaktionsnorm bei Trypanosomen, Hefen und vor allem Bakterien vor. Bei all diesen Angaben handelt es sich aber — soweit die Feststellungen überhaupt hinreichend exakt erscheinen und eine vererbungstheoretische Deutung zulassen — ausschließlich um Modifikationen und Dauermodifikationen, so daß wir sie erst in der den Dauermodifikationen gewidmeten Übersicht zusammenfassend betrachten wollen.

Sämtliche an Infusorien und anderen Protisten bisher gewonnenen Ergebnisse lassen sich somit ohne weiteres mit unseren Feststellungen vereinbaren und in den Rahmen der hier entwickelten allgemeinen Anschauungen einfügen: Die meisten der innerhalb von Klonen beobachteten Umstimmungen der Reaktionsnorm haben sich uns als Modifikationen oder Dauermodifikationen erwiesen. In manchen Fällen mögen auch genotypische Veränderungen, also Mutationen vorgelegen haben, doch kann man dies — wie wir sahen — vorerst eigentlich nur vermuten, da ein sicherer Nachweis kaum irgendwo geführt worden ist.

Die in den letzten Jahren von einer ganzen Reihe von Forschern betonte Aufspaltung eines Klones bei vegetativer Vermehrung mußten wir somit als völlig unbewiesen, ja sogar nach den bisherigen Erfahrungen wenig wahrscheinlich zurückweisen. Stützten die Angaben sich doch so gut wie ausschließlich auf Beobachtungen nur bei einfacher Teilung, konnten somit von vornherein keine sicheren Schlüsse auf wirklich erbliche Umstimmungen zulassen.

Es ist sehr eigenartig, daß die Erbliehkeitsuntersuchungen bei den Protozoen damit in den gleichen Fehler verfielen, wie er auf bakteriologischem Gebiete schon zuvor häufig begangen wurde; glaubten doch nicht wenige Forscher auch bei den Bakterien überall erbliche Veränderungen, Mutationen, erzielen zu können.

Während aber unter den Bakteriologen sich jetzt allmählich die richtige Erkenntnis Bahn bricht, daß von einer Feststellung wirklich genotypischer Verschiebungen bei ausschließlicher Prüfung während gewöhnlicher vegetativer Vermehrung im allgemeinen überhaupt nicht die Rede sein kann, sollte da bei den für Vererbungsforschungen soviel günstigeren Protozoen ein derartiger Rückfall in eigentlich schon überwundene Vorstellungen möglich werden? Denn der wesentlichste Vorteil, den uns die Untersuchungen an Protozoen und speziell den Infusorien bietet, besteht ja eben darin, daß wir hier die Möglichkeit haben, eine innerhalb einer Individuallinie auftretende Veränderung der Reaktionsnorm nebeneinander durch eine lange vegetative Vermehrungsperiode sowie auch nach geschlechtlichen Prozessen zu prüfen. Nur das Verhalten nach mehreren Befruchtungsvorgängen, also während mehrerer Generationen im strengsten Sinne, erlaubt uns ja zu entscheiden, ob genotypische oder phänotypische Umstimmungen im einzelnen Falle vorliegen.

Denn schwierig bei den Erblchkeitsverhältnissen der Protisten ist ja nicht die Feststellung vom Auftreten, Erhaltenbleiben oder Schwinden von Umstimmungen der Reaktionsnorm, schwierig ist auf den ersten Blick vielmehr die richtige Wertung solcher Veränderungen, der richtige Vergleich mit dem Verhalten vielzelliger Formen und damit die richtige Einordnung in die aus dem Verhalten der Vielzelligen gewonnenen Begriffe und Vorstellungen der modernen Erblchkeitslehre.

Ohne weiteres vergleichbar sind bei Protisten und vielzelligen Lebewesen die einfachen Modifikationen, Veränderungen, die durch äußere Faktoren im weitesten Sinne dem erblich festgelegten Wesen der Organismen, hier wie dort, nur äußerlich aufgezwungen sind und mit dem Schwinden dieser beeinflussenden Faktoren sogleich oder doch nach kurzer Zeit fortfallen. Ohne weiteres vergleichbar sind ferner die Mutationen, Änderungen der erblichen Anlagen, sei es durch äußere, sei es durch innere Umstände, die sich dauernd auch nach Fortfall des umstimmenden Faktors durch alle folgenden Generationen (nicht nur Teilungsschritte!) hindurch erhalten.

Kompliziert wird das Bild bei den Protisten erst durch das Vorhandensein der von uns klargestellten Dauermodifikationen, Veränderungen der Reaktionsnorm, die den Körper des Protisten tiefgreifend beeinflussen, sich bei der Vermehrung durch Teilung über zahlreiche, unter Umständen hunderte von Teilungsschritten hinweg auch nach Fortfall der umstimmenden Faktoren erhalten, ja gelegentlich sogar eine (oder mehrere) Conjugation oder Partheno-

genesis überdauern können, schließlich aber doch wieder abklingen. Dieses Schwinden der Abänderung, diese stets zu beobachtende Rückkehr zur alten Reaktionsnorm, beweist uns zwingend, daß auch bei solchen langdauernden Veränderungen die Erbanlage der betreffenden Organismen, ihr Genotypus, durch die umstimmenden Faktoren nicht verändert worden ist. Die Dauermodifikationen müssen also prinzipiell scharf von den Veränderungen der Gene, den Mutationen, unterschieden werden. Sie sind trotz ihres Erhaltenbleibens über zahllose Teilungsschritte hinweg, trotz ihres gelegentlichen Überganges durch einen geschlechtlichen Vorgang hindurch, also von einer Generation auf die andere, doch nicht als im strengen Sinne erbliche Veränderungen anzusehen.

Wir haben es bei ihnen eben mit den tiefgreifendsten phänotypischen Veränderungen der Protisten zu tun, Veränderungen, die dem Körper nur aufgezwungen sind, die genotypischen Potenzen lange Zeit nicht in normaler Weise zur Geltung kommen lassen, von ihnen schließlich aber doch überwunden werden.

Es ist ohne weiteres verständlich, daß derartige tiefgreifende Umstimmungen, bevor ihr Wesen einmal genau erkannt ist, leicht zu Mißdeutungen, zu irriger Parallelsetzung mit echten Mutationen Veranlassung geben, Mißdeutungen, die bei Prüfung allein der vegetativen Vermehrung der Protisten und bei der bei den Erblichkeitsuntersuchungen auf diesem Gebiete leider üblich gewordenen Bezeichnung der einzelnen Teilungsschritte als Generationen kaum vermeidbar erscheinen. Denn die Übertragung von Veränderungen bei der Vermehrung durch Teilung ist — dies müssen wir immer wieder gegenüber der herrschenden Ansicht besonders betonen — „eben doch nicht ohne weiteres mit der durch Keimzellen vermittelten Vererbung bei vielzelligen Lebewesen zu vergleichen“. Nur wenn wir uns dies vor Augen halten, wenn wir also jede beobachtete Umstimmung der Reaktionsnorm nicht nur durch hunderte von Teilungsschritten, sondern daneben auch durch eine Anzahl geschlechtlicher Perioden, also wirklich durch mehrere Generationen hindurch verfolgen, können wir ihren Charakter mit Sicherheit bestimmen, entscheiden, ob genotypische oder phänotypische Umstimmung der Reaktionsnorm vorliegt.

Dann, aber auch nur dann, sehen wir, daß die Erblichkeitsverhältnisse bei den Protisten mit denen bei Pflanzen und Metazoen durchaus übereinstimmen. Dann, aber nur dann, können wir richtige Vergleiche ziehen und sind auch berechtigt, die bei den Vielzelligen gewonnenen Begriffe und Einteilungen der Variabilitäts-



formen, Modifikation, Mutation und Kombination auch auf die bei den Protisten zu beobachtenden Erscheinungen zu übertragen. Dann, aber nur dann, ist es auch möglich, die in mancher Hinsicht für eine experimentelle Forschung günstiger liegenden Verhältnisse bei den Protisten zur Aufklärung allgemeiner Fragen der Erblchkeitslehre heranzuziehen. —

Unsere hier geschilderten Untersuchungen galten in erster Linie dem Hauptproblem dieses ganzen Gebietes, der Frage nach der Entstehung und Umbildung der Arten. Unser Ergebnis hierbei entspricht durchaus den von JOHANNSEN auf Grund seiner berühmten Bohnenversuche entwickelten Vorstellungen: Auch wir mußten bei den Protisten zunächst eine scharfe Scheidung von phänotypischer und genotypischer Variabilität vornehmen; auch wir mußten uns zunächst von der Ohnmacht der Selektion in Individuallinien, vom phänotypischen Charakter so mancher Anpassungen überzeugen. Darüber hinaus aber lehrten uns Beobachtung und Experiment echte Mutationen, echte erbliche Umwandlungen von Individuallinien kennen, Umwandlungen, die durchaus den in der Natur nachweisbaren Rassenunterschieden gleichwertig waren. Unter den gleichmäßigen Bedingungen der Laboratoriumskultur ist das Auftreten von Mutationen bei Infusorien freilich nur selten zu erwarten und noch seltener ihr Nachweis; dürften sie doch meistens den an die Kulturbedingungen gut angepassten Laboratoriumsstämmen rasch wieder unterliegen (wie unsere Mutante  $\alpha 1$  in der Mischkultur mit  $\alpha$  vgl. S. 129). In der freien Natur dagegen mit ihren wechselnden Außenfaktoren ist bei dem nachgewiesenen Vorhandensein einer „sensiblen“ Periode im Zusammenhange mit jeder Conjugation die Möglichkeit der genotypischen Veränderung ständig geboten.

Damit ist ohne weiteres eine Erklärung der zahlreichen vorkommenden Paramäciennrassen gegeben, damit aber auch das Material für ein Eingreifen von Selektion im Kampfe ums Dasein. Nach Klärung der verschiedenen Variabilitätsformen, nach Ausschaltung der das Bild verwirrenden phänotypischen Erscheinungen und Einstellung allein auf die genotypischen Umwandlungen, kommt damit auch der alte, in jüngster Zeit oft allzu voreilig beiseite geschobene Grundgedanke DARWIN'S wieder zur Geltung von der Entstehung der Arten durch natürliche Zuchtwahl.

## II. Die Dauermodifikationen.

Der wichtigste Punkt bei der Aufklärung der Variabilitäts- und Vererbungserscheinungen bei unseren Paramäcien ist sicherlich die Feststellung der Dauermodifikationen, ihres Wesens und ihrer Bedeutung.

Wir hatten die Dauermodifikationen kennengelernt als tiefgreifende Veränderungen der Reaktionsnorm eines Klones, die sich bei vegetativer Vermehrung monatelang und unter Umständen durch Hunderte von Teilungsschritten hindurch erhalten können, die in manchen Fällen auch einzelnen Parthenogenesen und Conjugationen trotzen, schließlich aber immer wieder zur normalen Reaktionsnorm zurückkehren. Mit dieser stets, wenn auch häufig erst nach sehr langer Zeit, nachweisbaren Rückkehr zum normalen Verhalten des betreffenden Klones ist auch ohne Kreuzungsversuche wohl zwingend gezeigt, daß es sich bei den Dauermodifikationen eben nicht um Veränderungen des Genotypus, also streng erbliche Umstimmungen handeln kann, daß wir sie somit prinzipiell von den Mutationen, den ihrer Begriffsbestimmung nach genotypischen Veränderungen scharf scheiden müssen, mag eine Trennung im einzelnen Falle auch auf noch so große praktische Schwierigkeiten stoßen.

Denn wenn eine Umstimmung schon unter den Bedingungen der normalen Kultur, sei es auch erst nach langer Zeit, wieder schwindet, wenn wir weiterhin durch geschlechtliche Vorgänge solche Veränderungen mit einem Schlage beseitigen, oder doch ihr Schwinden erheblich beschleunigen können, so ist damit wohl ohne weiteres gegeben, daß es sich bei den Dauermodifikationen „um den Protisten nur äußerlich aufgezwungene Veränderungen handeln kann, die ihre potentiellen Fähigkeiten überhaupt nicht veränderten, sie zwar längere Zeit nicht zur Geltung kommen ließen, aber schließlich doch von ihnen überwunden wurden“. Gerade das Vorhandensein von Dauermodifikationen lehrt uns damit zugleich, daß die erbliche Übertragung auch bei den Protisten auf wesentlich verwickelteren Bedingungen beruhen muß, als es der naiven Vorstellung bei Formen, die sich durch einfache Zweiteilung vermehren können, auf den ersten Blick scheinen mag. Gerade die Dauermodifikationen zeigen uns, daß es auch bei den Protisten etwas geben muß, das dem Getriebe der vegetativen Lebensprozesse bis zu einem gewissen Grade entzogen ist; ein Etwas, das durch veränderte Außenbedingungen lange Zeit unterdrückt

erscheinen kann, das sich aber nach Fortfall solcher übermächtiger Außenfaktoren über kurz oder lang doch wieder durchsetzt und dem betreffenden Klone seine Eigenart aufprägt. Dieses Etwas bezeichnen wir eben als die genotypische Grundlage jedes Prostistenklones, die genotypische Grundlage, die bei den Dauermodifikationen nicht verändert sein kann, mögen wir sie uns nun als gesonderte stoffliche oder energetische Determinantenkomplexe vorstellen oder darin nur den Einfluß eines unveränderten Ganzen auf eine abgeänderte Komponente erblicken.

Von den Mutationen, den Änderungen der genotypischen Grundlage, sind unsere Dauermodifikationen somit prinzipiell geschieden, und damit, wie schon der Name sagt, der großen Gruppe der Modifikationen im Sinne BAUR's, der phänotypischen Umstimmungen zugewiesen.

Von typischen Modifikationen unterschieden sie sich, wie wir sahen, durch die lange Erhaltungsdauer der Abänderung auch nach Fortfall der abändernden Außenfaktoren. Dieser Unterschied kann in manchen Fällen, so bei den sich über  $\frac{1}{2}$  Jahr erhaltenden Arsenfestigungen oder durch Calciumverbindungen hervorgerufenen Umstimmungen, äußerst augenfällig sein. Betrachten wir aber die Dauermodifikationen in ihrer Gesamtheit, so finden wir sie durch alle möglichen Übergänge mit den gewöhnlichen Modifikationen verbunden. Wir kennen Nachwirkungen chemischer oder thermischer Beeinflussungen von Protisten, die sich durch einige wenige Teilungsschritte nach Fortfall des auslösenden Faktors noch geltend machen. Wir sehen, besonders bei den Versuchen mit Calciumverbindungen, alle Stufen von sofort schwindenden Modifikationen über kurze Nachwirkungserscheinungen zu wochen- und monate-, unter Umständen fast ein Jahr lang sich haltenden Dauermodifikationen.

Wenn wir diese stufenweise Steigerung der Dauermodifikationen überblicken, wenn wir uns ferner vergegenwärtigen, daß die bei den Arsenfestigungen nachgewiesene sofortige Beseitigung der Dauermodifikation durch eine Conjugation für andere Umstimmungen, so z. B. die durch Calciumverbindungen hervorgerufenen, nicht unbedingt gilt, daß also die Conjugation nicht, wie es zunächst scheinen konnte, als ein Jungbrunnen alles dem Körper der Infusorien Aufgezwungene stets mit einem Schlage beseitigt, also unter allen Umständen als sicheres Kriterium für die Unterscheidung von Dauermodifikationen dienen kann — dann drängt sich natürlich leicht die Frage auf, ob der von uns gezogene prinzipielle Unterschied zwischen Dauermodifikationen und Mutationen überhaupt noch berechtigt ist. Ist

diese Unterscheidung nicht nur eine Folge theoretischer Vereinengenommenheit, während in Wirklichkeit ebenso wie zwischen den einfachsten Nachwirkungen und den extremsten Dauermodifikationen unserer Versuche, so auch zwischen Dauermodifikationen und echten Mutationen nur quantitative und keinerlei prinzipielle Unterschiede bestehen? Würde nicht vielleicht durch weitere Fortsetzung oder Steigerung der umstimmenden Außenfaktoren schließlich eine nicht mehr zur Norm zurückschlagende Abänderung erzielt, die Dauermodifikation damit zur Mutation werden?

So verführerisch eine solche Anschauung manchem auch erscheinen mag, wir halten sie dennoch für irrig und durch unsere geschilderten Ergebnisse an Infusorien für widerlegt: Zunächst mußten wir sowohl bei den Temperatur- wie bei den Calciumversuchen feststellen, daß eine Steigerung der Dauermodifikationen keineswegs unbegrenzt möglich war, sondern in allen Fällen ein gewisses Maximum erreichte, das auch durch wesentlich längere Fortsetzung der Einwirkungen nicht überschritten werden konnte.

Und weiter: auch bei den nachhaltigsten, einer einmaligen Conjugation trotzenden Dauermodifikationen wurde durch eine Häufung von Conjugationen oder Parthenogenesen die Umstimmung stets restlos beseitigt, während die Mutationen hierdurch in keiner Weise zu verändern waren.

Von ausschlaggebender Bedeutung erscheint aber schließlich die Feststellung, daß eben gerade die beständigsten Dauermodifikationen unter der Einwirkung von Calciumverbindungen auf Protoplasma-Veränderungen beruhen, die entsprechenden Umstimmungen nach langer Wärmeeinwirkung auf Veränderung von Plasma und Macronucleus. Denn wenn wir auch bei den Protisten ganz allgemein, und selbst bei den höchst organisierten Formen, den Infusorien, Gene noch nicht mit gleicher Wahrscheinlichkeit wie bei den Vielzelligen (besonders nach den schönen Untersuchungen von MORGAN und seiner Schule) mit besonderen Kernstrukturen in Verbindung bringen können, das eine ist wohl sicher: eine ausgesprochen somatische und von Zeit zu Zeit erneuerungsbedürftige Struktur wie der Macronucleus der Paramäcien kann keine „Erbanlagen“ enthalten, kann nicht eine Erhaltung des Genotypus sichern. An ihr durch äußere Faktoren erzielte Veränderungen können an sich somit auch bei stärkster und andauerndster Steigerung niemals eine Änderung der genotypen Grundlage, eine Mutation, bedingen. Andererseits spricht aber doch wohl die prinzipielle Übereinstimmung der am Micronucleus bei der Conjugation zu beobachtenden Um-

wandlungen mit den sich an den Gametenkernen der Vielzelligen vor und während der Befruchtung abspielenden Vorgängen auch bei den Infusorien für einen engen Zusammenhang zwischen Geschlechtskern (Micronucleus) und Genkomplex.

Wir müssen somit an der prinzipiellen scharfen Trennung von Dauermodifikationen und Mutationen durchaus festhalten, festhalten auch an der Definition der Dauermodifikationen als tiefstgreifender phänotypischer Umstimmungen, die dem Körper der Protisten oder einzelnen seiner Komponenten durch äußere Faktoren für längere Zeit aufgezwungen sind.

Bei den Paramäcien lernten wir zwei verschiedene Typen solcher Umstimmungen kennen: Dauermodifikationen, die auf Veränderungen des Plasmas beruhten, und solche, denen daneben Macronucleusveränderungen zugrunde lagen. Bei anders gebauten Protisten könnten natürlich ebensogut auch andere Strukturelemente (z. B. Blepharoplasten, Chromatophoren u. a.) entsprechenden Umstimmungen unterliegen.

Je nach dem Charakter und dem Verhalten der abgeänderten Komponente muß aber auch das Verhalten und die Bedingungen der Rückbildung der Dauermodifikation verschieden sein. Die Veränderung des Macronucleus konnte nur bei einer Neubildung dieses Gebildes beseitigt werden. Solche Neubildung aber war nur im Zusammenhange mit Parthenogenesis oder Conjugation möglich, niemals jedoch allein bei vegetativer Vermehrung.

Damit ist ein wichtiges Moment für die Beurteilung lange bestehender bleibender Umstimmungen bei anderen Protisten gegeben, die eben wegen ihrer langen Erhaltungsdauer von manchen Untersuchern für wirklich erbliche Umstimmungen erklärt wurden. Stellen wir uns einmal vor, der Macronucleus der Infusorien wäre nicht — wie es nach den bisherigen Beobachtungen an Paramäcien der Fall zu sein scheint — im allgemeinen nur höchstens wenige Monate funktions-tüchtig, sondern könnte bei Verbesserung der Kulturmethoden oder Auffindung hierin günstigerer Infusorienarten Jahre, jahrzehntelang oder dauernd ohne Erneuerung bei Parthenogenesis oder Conjugation erhalten bleiben. In Zuchten, die an der Conjugation verhindert werden, würde somit keine Parthenogenesis, also auch keine Neubildung des Macronucleus erfolgen, wohl aber ließe sich Conjugation durch bestimmte Milieubedingungen erzwingen. Was wäre unter solchen Umständen für auf Macronucleusveränderungen beruhende Dauermodifikationen, wie wir sie bei unseren Wärmeversuchen kennen lernten, die Folge? — Bei rein vegetativer Vermehrung könnte sich

die Umstimmung der Reaktionsnorm dauernd erhalten, da sie ja an den sich dann dauernd erhaltenden Macronucleus geknüpft ist. Sie müßte also unter allen Umständen dem nur die vegetative Vermehrung prüfenden Untersucher als streng erbliche Abänderung, als „Mutation“, erscheinen. Und doch wäre in diesem Fall die erbliche Konstitution, die genotype Grundlage, durch die Veränderung überhaupt nicht berührt, wie eine Prüfung des Verhaltens nach einer erzwungenen Conjugation auch in solchem Falle natürlich zeigen müßte.<sup>1)</sup>

Diese Möglichkeit, das Erhaltenbleiben oder Schwinden einer Abänderung nicht nur bei vegetativer Vermehrung, sondern auch durch geschlechtliche Prozesse hindurch zu prüfen, schafft eben bei Protisten mit bekannten und relativ leicht auslösbaren Befruchtungsvorgängen wesentlich günstigere Bedingungen für eine Erblichkeitsanalyse, als sie bei Formen möglich sind, bei denen ein Sexualakt nicht bekannt ist oder vielleicht überhaupt nicht existiert. Solche Prüfungen des Verhaltens von Varianten nach einem Befruchtungsvorgang geben erst die Möglichkeit eines richtigen Vergleiches mit den Erblichkeitsverhältnissen der Pflanzen und Metazoen und andererseits auch die Möglichkeit der richtigen Bewertung der bei vegetativer Vermehrung zu beobachtenden Erscheinungen.

Das Verhalten der Veränderungen bei den Infusorien — bei anderen Protisten mit bekanntem Befruchtungsvorgang, aber ohne die Komplikation der Macronucleusbildung, liegen noch keine ausreichenden Beobachtungen vor — kann uns somit einen Prüfstein für die Wertung der bei rein asexuell geführten Zuchten auftretenden Umstimmungen der Reaktionsnorm geben. Von den hier gewonnenen Resultaten aus müssen und können wir erst die bei

<sup>1)</sup> Bei anderen Strukturverhältnissen sind noch extremere Möglichkeiten gegeben: werden z. B. Euglenen längere Zeit im Dunkeln in entsprechenden Nährlösungen gezüchtet, so erhält man infolge Rückbildung bzw. unzureichender Vermehrung der Chromatophoren farblose Formen, die aber am Lichte allmählich wieder ergrünen — es handelt sich also um typische Dauermodifikationen. Wird nun aber die Kultur sehr lange im Dunkeln fortgesetzt, so entstehen schließlich auch Euglenen, die selbst die letzten Reste des Chromatophorenapparates eingebüßt haben, daher auch bei Zurückversetzung ins Licht dauernd farblos bleiben müssen (falls dann nicht doch entsprechend manchen später bestrittenen Angaben eine Neubildung von Chromatophoren aus dem Kern möglich sein sollte oder Copulation mit grünen Individuen erfolgt). Aber selbst solche dauernd farblose Zuchten dürfen wir, so paradox es auch im ersten Augenblick scheinen mag, niemals als Mutationen, sondern — wenn wir nicht eine neue besondere Bezeichnung wählen wollen — nur als Dauermodifikationen werten, da sie eben nicht auf Veränderung der Gene, sondern auf Umstimmung besonderer spezifischer Strukturelemente beruhen (vgl. S. 208).

Trypanosomen, Hefen und vor allem bei den Bakterien, also Gruppen mit meist fehlender oder wenigstens nicht bekannter Sexualität, beschriebenen Umstimmungen der Reaktionsnorm dem Verständnis erschließen — niemals umgekehrt.

Schon eine flüchtige Sichtung der in den letzten 15 Jahren bei den genannten Protistengruppen recht häufig beschriebenen, aus unbekanntem Gründen oder unter bestimmt gerichteten Einwirkungen entstandenen Abänderungen lehrt uns, daß bei all diesen Microorganismen Veränderungen, die prinzipiell unseren Dauermodifikationen entsprechen, weit verbreitet sind: Bei parasitischen Protozoen, besonders den Trypanosomen, sind von EHRLICH und seinen Schülern, aber auch von manchen anderen Untersuchern, unter dem Einflusse chemischer Verbindungen oder von Seren Änderungen der Reaktionsnorm, Erhöhung der Widerstandsfähigkeit gegen diese schädigenden Agentien festgestellt worden, die sich monate- oder jahrelang durch hunderte von Teilungsschritten auch nach Fortfall der umstimmenden Faktoren erhalten konnten. Weitere genauere Untersuchungen zeigten aber, daß alle arznei- oder serumfesten Stämme nach kürzerer oder längerer Zeit schließlich doch wieder den ungefestigten Ausgangsstamm ergeben, ganz wie die entsprechenden als Dauermodifikationen erkannten Festigungen der Infusorien<sup>1)</sup>.

Ähnliche Versuche wie bei den Trypanosomen sind auch bei Hefen angestellt worden. So gelang es EFFRONT einen Hefestamm gegen  $\text{FlNH}_4$  weitgehend zu festigen. Von einer Konzentration von 200 mg pro Liter ausgehend erzielte er Gewöhnungen bis an 3000 mg. „Die an 2000 mg gewöhnte Hefe kann zwei Passagen durch Würze aushalten, ohne die Fähigkeit zu verlieren, Würze mit dem ursprünglichen Fluorgehalt zu vergären. Nach 10 Passagen ist sie gegen 1000 mg schon empfindlich und nach 20 Passagen kann sie 400 mg gerade noch vertragen.“ Die Ähnlichkeit mit den von uns erzielten hochgradigen Festigungen von Paramäcien gegen arsenige Säure und deren Rückbildung liegt wohl auf der Hand. Auch hier haben wir es somit mit einer allmählich wieder abklingenden Dauermodifikation zu tun.

Durchaus vergleichbare Beobachtungen liegen endlich auch bei den Bakterien schon in großer Zahl vor. Eine kurze kritische Übersicht habe ich bereits 1914 gegeben. Eine eingehende Zusammenstellung der bis zu dem gleichem Jahre vorliegenden Ergebnisse

<sup>1)</sup> Vgl. auch die näheren Ausführungen im Abschnitt „Das Problem der Giftfestigung“ S. 212.

ist von EISENBERG veröffentlicht worden. Da es sich schon bis 1914 nach der EISENBERG'schen Zusammenstellung um etwa 200 Arbeiten handelt, eine Zahl, die sich inzwischen noch weiter erheblich vermehrt hat, so kann es hier natürlich nicht unsere Aufgabe sein, allen einzelnen Befunden nachzugehen und ihre vererbungstheoretische Bedeutung Fall für Fall klarzulegen, sondern wir wollen uns hier nur mit einer kurzen prinzipiellen Übersicht und Stellungnahme begnügen.

Veränderungen sind bei den verschiedensten Gruppen der Bakterien und in verschiedenster Richtung geschildert worden. Geprüft wurden Wuchsformen, Koloniebildung, Gärungsvermögen, Farbstoffbildung, Kapsel- und Sporenbildungen, Virulenz, kurz so ziemlich alle für die bakteriologische Praxis zur Verwendung kommenden Charaktere. Und übereinstimmend fanden die verschiedensten Untersucher weitgehende Abänderungsfähigkeit der von ihnen geprüften Formen, mag es sich nun um Milzbrandbazillen, Pest-, Diphtherie-, Typhus-, Paratyphuserreger, um Cholera vibrios oder um Colibakterien gehandelt haben. Die beobachteten Abänderungen der normalen Reaktionsnorm traten zum Teil ohne erkennbare äußere Ursachen, häufiger jedoch unter der Einwirkung einer Ansammlung von Stoffwechselprodukten, wie sie in alten Kulturen ja unvermeidlich ist, oder aber bei bestimmt veränderten Außenfaktoren auf und hielten sich nicht selten auch unter den Bedingungen der normalen Zucht durch viele, in manchen Fällen sogar sehr zahlreiche, Passagen.

Seitdem NEISSER und MASSINI für eine derartige, bei einem Colistamme auftretende Variante, die sich vom Ausgangsstamme durch „Knopfbildung“ und verändertes Vergärungsvermögen auszeichnete, die Bezeichnung „Mutation“ anwandten, ist es bei den Bakteriologen leider üblich geworden, so gut wie jede in Reinkulturen beobachtete Abänderung, die sich bei isolierter Weiterzucht durch mehrere Passagen erhält, ohne weiteres als Mutation anzusprechen. Nur wenige Untersucher sind sich über die vererbungstheoretische Bedeutung des Ausdruckes „Mutation“ wirklich klar geworden und haben einen Vergleich mit den Erblichkeiterscheinungen bei den Vielzelligen und damit eine Rechtfertigung der von ihnen übernommenen Terminologie versucht. Auch sie sind aber meist zu irrigen Schlüssen und Vergleichen gekommen, Irrtümer, die bei den besonderen Verhältnissen bei rein asexueller Vermehrung — wie sie ja bei den Bakterien allein bekannt ist — nicht weiter wundernehmen können, gegen die wir aber auf Grund unserer Erfahrungen



an unserem günstigeren Untersuchungsobjekt Stellung nehmen müssen, damit eine theoretische Klärung, ein vererbungstheoretisches Verständnis auch auf dem Gebiete der Bakteriologie nicht noch weiter erschwert wird.

Bei strengerer Sichtung müssen zunächst natürlich alle die Untersuchungen ausgeschaltet werden, die mit einer für Erblichkeitsfragen ungenügenden Technik angestellt worden sind, bei denen ein unbekanntes, möglicherweise nicht einheitliches Ausgangsmaterial, eine Population, bearbeitet wurde. Aber auch nach solcher Ausschaltung bleiben noch genügend Fälle von Veränderungen von Bakterienklonen, haben doch seit dem Vorgange von BENECKE verschiedene Untersucher mit aus einem Keime gewonnenen Kulturen, also mit Klonen, gearbeitet.

Ebenso wichtig wie die Reinheit des Ausgangsmaterials ist aber eine genauere Kenntnis der normalen Reaktionsnorm des untersuchten Stammes und der Wirkungsweise der verwandten umstimmenden Faktoren. Denn bei gar mancher sogenannten „Mutation“ dürfte es sich nur um Schwankungen innerhalb der normalen Variationsbreite des betreffenden Bakteriums handeln, bei anderen um auch auf die Abänderung dauernd weiter wirkende, aber nicht berücksichtigte hemmende Faktoren des Kulturmediums. So hat erst unlängst BAIL auf die bei früheren Erblichkeitsuntersuchungen nicht genügend beachtete normale Variantenbildung bei Cholera-vibrionen hingewiesen. Nicht mit Unrecht meint er „die Fähigkeit unter Umständen, von denen das Alter der Zuchten am meisten wirksam zu sein scheint, andere Wuchsformen, aber wesentlich immer die gleichen anzunehmen, fällt gewissermaßen in den Artbegriff des Cholera-vibrio hinein; es ist eine Eigenschaft desselben, wie jede andere auch“. Natürlich gilt, was hier von dem Cholera-vibrio gesagt ist, ähnlich auch für andere Bakterienarten.

Betrachten wir aber nach Ausschaltung all solcher Scheinveränderungen die bei Reinzuchten von Bakterien festgestellten Umstimmungen der Reaktionsnorm, so sehen wir, daß fast alle sogenannten Mutationen bei länger fortgeführter Zucht unter normalen Bedingungen wieder zur Norm zurückschlagen. Dies gilt sowohl für das erworbene abgeänderte Vergärungsvermögen des *Bacterium coli mutabile* von NEISSER und MASSINI, wie für den Verlust des Gärvermögens bei Milchsäurebakterien (SCHIERBECK) und manchen anderen Formen (BERNHARDT, LENZ, SAISAWA u. a.), für die von MARX erzielte Giftfestigung und den Verlust der Beweglichkeit bei einem Bakterium der Hog-Cholera-gruppe, für den Virulenzverlust mancher Bakterien bei langdauernder Kultur außerhalb des Tierkörpers, für

die Änderung in der Farbstoffbildung bei *Bacillus prodigiosus* (WOLFF, BELJERINCK), für den Verlust des Kapselbildungsvermögens bei Milzbrand oder Friedländer-Bazillen (EISENBERG, TOENIENESSEN u. a.), kurz für alle abgeänderten Charaktere, für alle Formen der sogenannten Bakterien-„Mutation“. Gewiß sind die Schnelligkeit und die Bedingungen der Rückbildung der beobachteten Umstimmungen der Reaktionsnorm verschiedene: in manchen Fällen treten sie schon nach einigen wenigen Passagen bei allen oder fast allen Abkömmlingen der veränderten Individuen auf; bei anderen Umstimmungen bedarf es erst langdauernder Weiterzucht nach Ausschaltung der abändernden Faktoren, wieder bei anderen erst der Passage durch den Tierkörper, also eines schroffen Wechsels der Außenbedingungen, bis die normale Reaktionsnorm wieder erreicht ist. All dies sind aber natürlich keine prinzipiellen, qualitativen, sondern nur quantitative Unterschiede, die durchaus der verschiedenen langen Erhaltungsdauer unserer bei den Infusorien beobachteten Dauermodifikationen entsprechen. Prinzipiell von Bedeutung ist eben nur die Feststellung, daß in fast allen Fällen sogenannter Bakterienmutation ein solcher Rückschlag zum Verhalten des Ausgangsstammes beobachtet wurde, ein Rückschlag, der eben den Charakter der Umstimmung als nicht genotypischer, sondern als Dauermodifikation nach unseren Erfahrungen an den Paramäcien zwingend beweist. Artumbildende Bedeutung kann all diesen Erscheinungen somit nicht zukommen.

Gegen diese unsere Auffassung sind nun von bakteriologischer Seite verschiedene Einwendungen erhoben worden. So glaubt SALZMANN einen wesentlichen Unterschied der „Bakterienmutation“, speziell auch der Veränderung des *Bacterium coli mutabile* in dem plötzlichen, sprungweisen Auftreten der abgeänderten Form erblicken zu müssen, das eben den Charakter der Veränderung als Mutation bewiese. Er übersieht dabei, daß (wie die von DE VRIES zuerst gegebene Definition überhaupt längst überholt ist) so auch speziell das Moment des plötzlichen sprungweisen Auftretens noch keineswegs zum Charakter einer Mutation gehören muß oder ihn gar beweist. Entscheidend ist ja nur der Nachweis einer wirklich streng erblichen, genotypischen Umstimmung. Weiterhin übersieht SALZMANN, daß, wie schon EISENBERG mit Recht auseinandergesetzt hat, der Nachweis des sprungweisen Auftretens gerade bei Bakterienkulturen häufig überhaupt nicht zu führen ist, vor allem aber auch, daß man bei den Infusorien genau so gut von plötzlichem sprunghaften Entstehen von Arsenfestigungen sprechen kann, wie bei dem Auftreten seiner Bakterienmutanten.

Weshalb soll denn die Entstehung von gegen die fünffach tödliche Dosis gefestigter Infusorien nach einmaliger Einwirkung einer wesentlich schwächeren Giftlösung (vgl. S. 49) weniger „sprunghaft“ erfolgt sein, als seine abweichenden Wuchsformen? Dies sind eben alles nur Erscheinungen von sekundärer Bedeutung, prinzipiell dagegen ist die Übereinstimmung in dem erblichen oder richtiger gesagt nicht erblichen Verhalten all dieser Umstimmungen.

Wesentlich wichtiger erscheinen die allgemeinen Einwendungen, die gegen unsere Auffassung vor allem von EISENBERG, aber auch von manchen anderen Untersuchern geltend gemacht werden. EISENBERG verfolgte die verschiedensten Veränderungen der Reaktionsnorm an einem sehr großen Material, fand bei manchen ein sofortiges Schwinden unter normalen Zuchtbedingungen, bei anderen ein kurzes, wieder anderen ein längeres Erhaltenbleiben der Abänderung unter „normalen“ Bedingungen; bei einem Teil der Umstimmungen endlich glaubte er das dauernde Ausbleiben von Rückschlägen nachgewiesen zu haben. Er sieht nun in allen diesen Erscheinungen nur quantitative, stufenweise Unterschiede einer Entwicklungsreihe, die von kurzen Nachwirkungen bis zu dauernd erhalten bleibenden Veränderungen der Reaktionsnorm führen, von einfachster Modifikation bis zu echter Mutation. Denn daran, daß die während der ganzen Untersuchungsdauer bestehenbleibenden Veränderungen als Mutationen anzusprechen seien, zweifelt EISENBERG nicht. Im Gegensatz zu unseren Ausführungen erkennt er somit einen prinzipiellen Unterschied zwischen Dauermodifikation und Mutation nicht an, sondern sieht in der Dauermodifikation eben nur eine Zwischenstufe, einen Übergang von Modifikation zur Mutation.

Daß solche Auffassung auf Grund von Ergebnissen allein an Bakterien oder anderen sich nur durch Zweiteilung fortpflanzenden Protisten sich leicht aufdrängen kann, ist ohne weiteres verständlich, mußten doch auch wir bei Betrachtung der Reihe der sich immer länger erhaltenden Dauermodifikationen, besonders der unter Calciumeinwirkungen entstandenen, uns die Frage vorlegen, ob nicht tatsächlich ein solcher Übergang von Dauermodifikation zur Mutation erfolgen könne und unsere prinzipielle scharfe Scheidung nur eine künstliche Konstruktion darstelle. Nachdem wir aber bei den für Vererbungsversuche soviel günstigeren Infusorien aus dem verschiedenen Verhalten der von uns als Dauermodifikationen und Mutationen bezeichneten Veränderungen bei geschlechtlichen Vorgängen und aus der dort möglichen Zurückführung der Dauermodifikationen auf Umstimmungen bestimmter somatischer Strukturen

den prinzipiellen Unterschied zwischen Mutationen und Dauermodifikationen klar nachweisen konnten, müssen wir natürlich die dort gewonnenen Kriterien auch für die Beurteilung der einer Analyse schwerer zugänglichen Variationserscheinungen bei Bakterien zugrunde legen. Wir müssen auch hier alle nach längerer oder kürzerer Zeit wieder zur Ursprungsreaktionsnorm zurückkehrenden Veränderungen als nicht streng erbliche, nichtgenotypische, sondern nur als Dauermodifikationen betrachten und auch für die sich am längsten haltenden Umstimmungen die Bezeichnung Mutation, die Annahme eines allmählichen Überganges zur echten Mutation, prinzipiell ablehnen. •

Für weitaus die meisten der bisher als Mutationen bei Bakterien beschriebenen Umstimmungen der Reaktionsnorm kann schon heute das Auftreten von Rückschlägen zur Ausgangsform als bewiesen oder doch höchst wahrscheinlich erachtet werden. Bewiesen ist damit auch ihr Charakter als Dauermodifikationen. Dies gilt in gleicher Weise für die erworbene Serumfestigkeit, das veränderte Zuckerspaltungsvermögen, veränderte Wuchsformen und Farbstoffbildungen; in gleicher Weise aber auch wohl für sämtliche von EISENBERG beschriebenen Fälle von künstlich erzeugten asporogenen Rassen bei Milzbrand. Denn es geht natürlich nicht an, zwei von zehn gleichzeitig angelegten Zweigen für dauernd asporogen zu erklären, weil sie nach 54 Passagen noch keine Sporenbildung wieder aufwiesen, wenn bei den anderen Zweigen der gleichen Abstammung das verlorene Sporenbildungsvermögen nach 4, 9, 19, 26, 33, 43 und 45 Passagen wieder auftrat. Hier ist der Unterschied zwischen der letzten beobachteten Rückbildung, also sicheren Dauermodifikation und den angeblich „dauernd“ asporogenen Zweigen im Vergleich zu den bei dem ganzen Versuch beobachteten Unterschieden zwischen den einzelnen Kulturen derartig geringfügig, daß die Bezeichnung der letzten beiden Stämme als dauernd asporogen nur aus der primären theoretischen Voraussetzung des Beobachters heraus verständlich wird, daß es sich bei all diesen Umstimmungen eben um eine kontinuierliche, von einfachsten Nachwirkungen zu echten Mutationen führenden Reihe handeln müsse. Ganz entsprechend ist auch wohl für manche anderen, von verschiedenen Forschern als dauernd abgeändert beschriebenen Variationsformen von Bakterien, bei längerer Beobachtungszeit oder bei häufigem, schroffem Wechsel der Kulturbedingungen ein Rückschlag zur Ausgangsform zu erwarten — und damit die Aufklärung ihres Charakters als Dauermodifikation.

Manche sich unter gewöhnlichen Zuchtbedingungen scheinbar

dauernd erhaltenden Abänderungen der Reaktionsnorm von Bakterien konnten ja bereits durch Kultur auf Carbolagar, durch Passage durch den Tierkörper oder ähnliche wesentlich veränderte Außenbedingungen zum Rückschlag gebracht werden. Es ist dabei ja auch noch zu berücksichtigen, daß gerade unter den sogenannten „normalen“ Kulturverhältnissen manche im Sinne der Entstehung oder Erhaltung der Variante wirkende oder eine Rückbildung hemmende Faktoren vorhanden sein können. So berichten BRAUN und FEILER (1914), daß ein durch viele Passagen in aktivem Serum gefestigter Typhusstamm bei Weiterzucht in Bouillon noch längere Zeit diese Festigung unverändert erhalten konnte, während er bei der Kultur auf Agar schon in der ersten Passage zum größten Teil in den Zustand des Ausgangsstammes zurückkehrte. Mit Recht weisen die Untersucher daher darauf hin, „welch große Rolle für den Verlust der erworbenen Festigkeit“ (und das gleiche können wir natürlich auch für alle anderen Umstimmungen sagen) „der künstliche Nährboden spielt und mit welcher Vorsicht die Resultate jener Untersuchungen zu betrachten sind, die auf diese Tatsache keine Rücksicht genommen haben.“

Bei den Beobachtungen von BRAUN und FEILER ist aber noch weiterhin von Interesse, daß bei der Kultur auf Agar zwar der größte Teil der Typhusbakterien wieder sehr rasch normale Reaktionsnorm aufwies, daß daneben aber eine kleinere Anzahl von Individuen die erworbene Festigung noch längere Zeit beibehielt und erst nach vielen Passagen allmählich gleichfalls zurückbildete. Dies weist wohl darauf hin, daß auch in den Fällen von WOLFF, EISENBERG u. a., bei denen immer nur bei einem Teile der abgeänderten Bakterien ein Rückschlag zum Ausgangsstamm beobachtet werden konnte, während ein anderer Teil abgeändert blieb, es sich gleichfalls nur um quantitative Unterschiede, nur um zeitliche Verzögerungen der Rückbildung von Dauermodifikationen handelte, die bei längerer Fortsetzung der Beobachtungen wohl ganz wie bei BRAUN sämtlich völlig geschwunden wären.

Zweifellos können somit Dauermodifikationen auch bei Bakterien sehr lange bestehen bleiben, wie besonders neuerdings auch von BÄRTHLEIN in vielen Fällen gezeigt werden konnte; trat doch bei manchen der von ihm erzielten Umstimmungen eine Rückbildung zur Reaktionsnorm erst nach etwa einem halben Jahr und auch das nicht unter allen üblichen normalen Kulturbedingungen auf.

Wollten wir manchen der Beobachter sogenannter Bakterienmutationen folgen, so müßten wir sogar schon jetzt sämtliche bei Bakterien vorkommenden Umstimmungen der Reaktionsnorm als

Modifikationen und Dauermodifikationen erklären, nimmt doch z. B. BEIJERINCK (ebenso BÄRTHLEIN) an, daß Rückschläge zum Verhalten des Ausgangsstammes stets auftreten, Rückschläge, die von den genannten Forschern als „Rückmutationen“ gedeutet wurden, während sie uns gerade den Charakter der Veränderungen als phänotypischen, als Dauermodifikation beweisen.

Ein solcher radikaler Standpunkt erscheint uns nach unseren Erfahrungen an Infusorien doch nicht gerechtfertigt oder zum mindesten verfrüht. Denn bei Infusorien konnten wir ja zeigen, daß neben den verschiedenen Graden und Formen der Dauermodifikationen auch wirklich erbliche Veränderungen, also echte Mutationen, auftreten können. Bei den Infusorien erlaubten die dort günstigeren Untersuchungsbedingungen, die Möglichkeit der vergleichenden Prüfung durch hunderte von Teilungsschritten wie auch durch mehrere geschlechtliche Perioden, also wirklich durch mehrere Generationen hindurch, eine Trennung phänotypischer und genotypischer Umstimmungen, von Dauermodifikationen und Mutationen. Bei den Bakterien sind die Prüfungsmöglichkeiten ja leider viel ungünstiger, da wir ja bei ihnen im allgemeinen nur das Verhalten bei vegetativer Teilung, also vererbungstheoretisch betrachtet, immer nur die gleiche Generation untersuchen können<sup>1)</sup>. Mit Sicherheit läßt sich also bei ihnen der Charakter einer Änderung als genotypisch, als Mutation auch bei längster Erhaltungsdauer nicht beweisen. Immerhin liegen aber einige Beobachtungen vor, die wenigstens den Verdacht einer wirklich dauernden, nicht zurückschlagenden Umstimmung nahelegen. Ich denke dabei an die Veränderungen von Hefen in den berühmten Untersuchungen von HANSEN, bei denen die Umstimmung sich 18 Jahre lang ungeschwächt erhielt; weiterhin an manche Beobachtungen von BARBER, der bei seinen Zellkulturen neben gewöhnlichen Modifikationen, neben längere Zeit bestehenden, aber schließlich doch zurückschlagenden Umbildungen, also Dauermodifikationen, in einzelnen Fällen schließlich auch Varianten beobachtete, die auch bei langer Versuchsdauer ihren primären abweichenden Charakter beibehielten und auch allen planmäßigen Umzüchtungs- und Selektionsversuchen trotzten.

---

<sup>1)</sup> Ganz unzulässig ist es natürlich, wenn EISENBERG zwar nicht jede Bakterienteilung wohl aber jede Kulturpassage als Generation bezeichnet und den Generationen der Pflanzen und Metazoen wegen der nach seiner Meinung etwa gleichen Zahl der Teilungen in beiden Fällen gleichsetzen zu können glaubt. Durch Stecklinge fortgezogene Pflanzen müßten bei solcher Auffassung ja eine Unzahl von Generationen darstellen.

In solchen Fällen könnte es sich möglicherweise um wirklich erbliche, den Mutationen unserer Paramäcien entsprechende Umstimmungen der Reaktionsnorm handeln.

Um auf die theoretische Möglichkeit auch genotypischer Veränderungen hinzuweisen, um nicht noch einen neuen Namen für eine nicht näher bestimmbare Gruppe von Erscheinungen einzuführen, hatte ich für derartige Fälle, bei denen also keinerlei Rückbildungen der Umstimmungen auftreten, zunächst noch den Namen Mutation beibehalten, dabei aber betont, daß es sich nur um eine vorläufige Einordnung handeln könne, da vielleicht noch manche hierher gestellten Varianten sich bei weiterer Beobachtung als rückschlagend und damit als Dauermodifikationen erweisen würden. Zur Klärung dieses Gebietes dürfte es aber doch wohl zweckmäßiger sein, auch die letzte theoretische Konsequenz zu ziehen und, da der genotypische Charakter bei Formen mit nicht bekannten oder gänzlich fehlenden Sexualitätserscheinungen und ebenso bei allen nicht durch mehrere Befruchtungen, also wirklich durch mehrere Generationen, hindurch verfolgten Umstimmungen niemals sicher nachgewiesen werden kann, den Ausdruck Mutation hier ganz zu vermeiden. Nach dem Vorgange E. LEHMANN'S sind daher alle derartigen, nur bei vegetativer Vermehrung beobachteten nicht zurückschlagenden, aber bei der ganzen Sachlage auch nicht mit Sicherheit als genotypische Veränderungen anzusprechenden Umstimmungen mit dem indifferenten Namen „Klonumwandlungen“ zu bezeichnen. Zu betonen ist aber dabei, daß zur Gruppe der Klonumwandlungen eben nur die nicht zurückgehenden Umstimmungen der Reaktionsnorm gestellt werden können; alle nach längerer oder kürzerer Zeit zur Norm zurückschlagenden Varianten dagegen bedürfen einer solchen provisorischen indifferenten Klassifizierung nicht mehr, sondern beweisen eben durch das Abklingen der Umstimmung ihren Charakter als Dauermodifikation.

Nach den bisher vorliegenden Beobachtungen erscheint das Auftreten der möglicherweise dauernd bestehenbleibenden Bakterienveränderungen nur recht selten vorzukommen. „Im Gegensatz zu manchen Forschern, die heute auf Grund der zahlreichen, irrtümlich als Mutationen gedeuteten Dauermodifikationen auf Schritt und Tritt Mutanten finden und nur alte Kulturen auszusäen brauchen, um derartige „erbliche“ Umstimmungen zu erzielen, müssen wir also gerade die relativ große Konstanz der genotypen Konstitution auch der Bakterien betonen. Unser Standpunkt entspricht damit durchaus wieder den Anschauungen der „klassischen“ Bakteriologie

und findet ja auch in den praktisch medizinischen Erfahrungen seine Bestätigung. Denn handelte es sich bei den Veränderungen wirklich um genotypische Umstimmungen und nicht nur um stets wieder abklingende Dauermodifikationen, wie schnell hätte dann der stolze Bau der bakteriologischen Diagnostik in sich zusammensinken müssen! Denn wie wäre besonders bei unseren, rein biologisch betrachtet, noch recht unvollkommenen Kenntnissen und Hilfsmitteln auf diesem Gebiete eine sichere Identifizierung möglich, wenn so leicht und schnell immer neue, erblich verschiedene Formen entstanden?“ (JOLLOS 1914).

Wohl aber zeigen die Erfahrungen an den Dauermodifikationen, wie notwendig eine gründlichere Erforschung der normalen Variabilität und Reaktionsfähigkeit der Bakterien und ihrer Modifizierbarkeit durch Außenbedingungen ist — dürften doch manche hier unterschiedenen Rassen, vielleicht sogar manche Arten sich nur als Dauermodifikationen herausstellen. Und Dauermodifikationen der betreffenden Erreger dürften wohl bei Virulenzschwankungen, auch bei der Erzielung avirulenter Stämme (z. B. der Vaccine aus Variola), schließlich bei Unterschieden im Charakter verschiedener Epidemien der gleichen Krankheit eine nicht zu unterschätzende Rolle spielen. —

Die gleichen Verhältnisse wie auf bakteriologischem Gebiete liegen auch bei den Untersuchungen über Variabilitätserscheinungen und Mutationsbildung bei asexuellen Pilzen vor. Auch hier müssen wir also Umstimmungen der Reaktionsnorm, die schließlich doch wieder abklingen, zu den Dauermodifikationen, dagegen die im Verlaufe aller Beobachtungen sich bisher beständig erhaltenden zunächst zu den „Klonumwandlungen“ rechnen.

Mit diesem flüchtigen Überblick der bei den verschiedensten Gruppen der Protisten schon jetzt nachweisbaren und nachgewiesenen Dauermodifikationen ist aber die Verbreitung und Bedeutung dieser Gruppe von Erscheinungen keineswegs erschöpft; denn ebenso wie bei Infusorien, Trypanosomen, Hefen, Pilzen und Bakterien treten sie uns bei genauerer Untersuchung auch bei allen anderen Protistengruppen entgegen. Wenn manche Flagellatenformen bei längerer Kultur auf festen Nährböden den Geißelapparat und damit ihre Beweglichkeit verlieren und dann bei Rückversetzung in ein flüssiges Medium erst nach längerer Zeit wieder zu beweglichen geißeltragenden Formen werden (vgl. z. B. HARTMANN 1921), was ist es anderes als eine Dauermodifikation? Wenn die verschiedensten Protisten bei längerer Laboratoriumszucht sich, wie wir in unseren Untersuchungen wiederholt erwähnen mußten, widerstandsfähiger als zu Beginn der



Kultur erweisen und auch sonst manche Änderungen der Reaktionsnorm zeigen, so können wir auch hierin nur Dauermodifikationen erblicken.

Für die Anpassungserscheinungen der Protisten, ihre Widerstandsfähigkeit gegenüber den verschiedensten schädigenden Außenbedingungen, für ihre Erhaltung über Perioden ungünstiger Veränderungen der Außenwelt spielen die Dauermodifikationen somit wohl die wichtigste Rolle. Als langanhaltende phänotypische Anpassungen unter direkter Einwirkung abgeänderter Außenbedingungen treten sie hier neben die allgemeinen genotypischen, also artumbildenden Anpassungserscheinungen der Organismen, deren Zustandekommen wir heute wohl nur auf der Basis einer natürlichen Selektion auftretender genotypischer Varianten, also von Mutationen, deuten können.

Die Bedeutung der Dauermodifikationen und die Häufigkeit ihres Auftretens bei den verschiedensten Protisten erklärt sich wohl ohne weiteres aus den besonderen Fortpflanzungsverhältnissen dieser Organismengruppe. Wird doch bei der Zweiteilung die gesamte, durch alle vitalen Funktionen schon beanspruchte, jedem Wechsel der äußeren Bedingungen ausgesetzt gewesene und unter Umständen von ihnen abgeänderte lebendige Substanz übertragen — nicht wie bei der Vermehrung durch besondere Keimzellen ein den Außenfaktoren wie den Funktionen des Organismus relativ entzogenes Material.

Gewiß haben wir gerade auf Grund unserer Erfahrungen betonen müssen, daß auch die „Vererbung“ bei vegetativer Vermehrung kein einfaches Übernehmen fertig vorhandener Strukturen und aller Abänderungen darstellt. Gewiß sind z. B. die durch chemische Einwirkungen bedingten Dauermodifikationen unserer Paramäcien nicht auf einfache Verteilung im Körper angehäufter Ca- oder As-Verbindungen zurückzuführen, da wir ja sonst bei der Vermehrung der Infusorien stets sehr rasch zu unwirksamen Verdünnungen solcher Verbindungen gelangen müßten. Vielmehr muß es sich dabei um tiefgreifende Veränderungen plasmatischer Funktionen handeln, die, einmal umgestimmt, auch nach Fortfall der umstimmenden Faktoren die abgeänderte Richtung beibehalten.

Die Entwicklungs- und Vermehrungsverhältnisse der Protisten aber bringen es mit sich, daß derartig umgestimmtes Plasma oder umgestimmte andere Körperelemente nicht nur leichter entstehen können, sondern auch durch die Teilungen und ebenso durch die Conjugationen mitgeführt werden, und weiterhin, daß ihre Wirkung augenfälliger in die Erscheinung tritt.

Die Dauermodifikationen gewähren uns damit zugleich einen Einblick in die Rolle einzelner Strukturelemente bei der Entstehung und Übertragung mancher Reaktionen der Protisten. Und gerade die die Analyse der Erblichkeitserscheinungen zunächst erschwerenden besonderen Struktur- und Entwicklungsverhältnisse der Infusorien haben sich uns für die Aufklärung des Zusammenhanges von Variabilitäts- und Vererbungserscheinungen mit bestimmten Strukturelementen und entwicklungsgeschichtlichen Vorgängen besonders günstig erwiesen und führen somit zu einer hier für das Verständnis dringend erforderlichen cytologisch orientierten Einteilung der Übertragungserscheinungen.

Nach den jetzt vorliegenden Erfahrungen vor allem der MORGAN'schen Schule kann an dem Zusammenhange der Gene, der aus den Kreuzungsexperimenten erschlossenen, den MENDEL'schen Regeln der alternativen Verteilung folgenden Erbanlagen und ihrer Veränderungen, den Mutationen, mit bestimmten Kernstrukturen kaum mehr gezweifelt werden. Andererseits lernten wir Dauermodifikationen als Folge von Veränderungen des Plasma oder bestimmter gesonderter Strukturelemente der Infusorien kennen.

An Stelle der alten Begriffsbestimmung der Vererbung als Übertragung von Anlagen auf die Nachkommen, einer Begriffsbestimmung, die die Mannigfaltigkeit der Übertragungserscheinungen nicht berücksichtigt, setzen wir also die Einteilung: 1. Übertragung von Erbanlagen (Genen) und deren Veränderung, die mit Kernstrukturen (Chromosomen) in Zusammenhang stehen und 2. Übertragung von Veränderungen, die auf Umstimmungen des Plasmas oder bestimmter gesonderter Strukturen beruhen.

Nur Abänderungen, die zur ersten Gruppe gehören, sind als genotypische, als Mutationen oder nach der in dieser Arbeit verwandten Ausdrucksweise als „im strengsten Sinne erbliche“ Abänderungen zu bezeichnen. Alle Umstimmungen der zweiten Art gehören zur Kategorie der Modifikationen und Dauermodifikationen.<sup>1)</sup>

---

<sup>1)</sup> Gemäß dieser Begriffsbestimmung und Einteilung können somit Abänderungen wie z. B. die künstlich erzielte Doppelkernigkeit von *Spirogyra* (Gerassimow) nicht, wie noch in meiner Zusammenfassung von 1914, zu den Dauermodifikationen gerechnet werden (ganz unabhängig von der m. E. durch die Angaben GERASSIMOW's noch nicht ausreichend geklärten Frage des Schwindens oder dauernden Erhaltenbleibens der Abänderung nach Befruchtung. Vgl. hierzu VAN WISSELINGH 1920.). Da es sich hierbei aber, ebenso wie bei den mannigfachen bei Metazoen und Pflanzen beobachteten oder experimentell hervorgerufenen Änderungen der Chromosomenzahl, auch nicht um Abänderung von Genen selbst, sondern, ähnlich

Auf diesen primären Unterschied der Bedingtheit durch Kern- oder Plasma (im weitesten Sinne)-Veränderungen muß das differente Verhalten von Mutationen und Dauermodifikationen zurückgeführt werden, die Konstanz der einen wie das rasche oder langsame Schwinden der anderen. Und so betrachtet bietet auch die Wertung z. B. der dauernd farblosen, da durch vollständigen Chromatophorenverlust entstandenen Varianten von *Euglena* (vgl. S. 195) als Dauermodifikationen keine Schwierigkeiten.

In einer Hinsicht bedarf diese Auffassung, aber auch die von uns durchgeführte Analyse der Variabilitäts- und Vererbungserscheinungen bei Infusorien allerdings noch einer Prüfung: Der Charakter eines Teiles der beobachteten Umstimmungen als Mutationen ist nur aus der Konstanz bei vegetativer Vermehrung und allen geschlechtlichen Vorgängen erschlossen (vgl. S. 156). Der letzte, einwandfreieste Beweis ihres genotypischen Wesens, ihres Zusammenhanges mit dem Geschlechtskern wäre, wie der Nachweis von Genen überhaupt, erst durch die Prüfung im Kreuzungsversuch zu erbringen — eine Prüfung die aus technischen Gründen bei den Paramäcien vorerst noch nicht durchführbar ist.

Die Struktur- und Vermehrungsverhältnisse der Protisten lassen das Erhaltenbleiben und die Übertragung von Umstimmungen, die nicht auf Veränderung der Gene, sondern anderer Körperelemente beruhen, besonders häufig und augenfällig hervortreten — doch auch bei Pflanzen und Metazoen fehlen entsprechende Erscheinungen, die also in den Rahmen der Dauermodifikationen fallen, keineswegs, wenn auch bisher verhältnismäßig wenig auf sie geachtet worden ist.

Auf ein sehr instruktives Beispiel dieser Art hat BAUR hingewiesen: Junge Efeupflanzen besitzen bekanntlich breite eckige Blätter, während vor der Blütenbildung länglich zugespitzte Blattformen entwickelt werden. Nimmt man nun einen Zweig mit solchen länglich zugespitzten Blättern und läßt ihn zu einer neuen Pflanze auswachsen, so bildet diese und alle aus ihr durch vegetative Sprossen weiter gezogenen Abkömmlinge ausschließlich länglich zugespitzte Blätter. Zieht man dagegen aus dem Samen solcher abgeänderter Pflanzen eine neue Generation, so zeigt diese wieder das normale ursprüngliche Verhalten des Efeu, also in der Jugend eckige, vor der Blüte länglich zugespitzte Blätter — ganz wie unsere Para-

wie bei den Kombinationen, um Änderungen eines Genbestandes handelt, so können wir bei dieser Gruppe von Erscheinungen auch nicht gut von Mutationen sprechen, sondern müssen sie als besondere Variationsform zusammenfassen, für die die Bezeichnung „Cumulation“ vorgeschlagen sei.

mäcien-Dauermodifikationen, die bei vegetativer Vermehrung erhalten blieben, nach Conjugation dagegen schwanden. —

Mit unseren Dauermodifikationen vergleichbare Erscheinungen dürften auch bei manchen der Beobachtungen von WOLTERECK und seinen Schülern an Daphniden vorliegen. Die von ihm festgestellten langen Nachwirkungen veränderter Außenbedingungen, kurz alles oder doch das meiste, was er unter dem Begriffe der Präinduktion zusammenfaßt, läßt sich wohl zwanglos in den Rahmen der Dauermodifikationen fügen, der Umstimmungen eben nicht des Genkomplexes, sondern anderer Zellelemente, hier wohl auch des Plasmas.

Während wir bei den Daphniden die plasmatische Bedingtheit der beobachteten Nachwirkungen vorerst nur vermuten können, zeigen die Untersuchungen von CORRENS (1908, 1909) über die *albomaculata* Sippe von *Mirabilis Jalapa* wohl einwandfrei die Übertragung einer auf Veränderung des Plasmas beruhenden Umstimmung der Reaktionsnorm von einer Generation auf die andere. Auch hier haben wir es also mit einer nicht genotypischen, also naturgemäß auch nicht „mendelnden“ Abänderung zu tun, somit wiederum mit einer Dauermodifikation.

Weitere Beispiele derartiger Veränderungen und Übertragungen werden wohl nicht auf sich warten lassen, sobald erst die Erbllichkeitsforschung neben der Analyse mendelnder Faktoren auch solchen anders bedingten und anders in die Erscheinung tretenden Umstimmungen mehr Aufmerksamkeit schenkt.

Dann erst wird die Bedeutung der Dauermodifikationen auch für die vielzelligen Lebewesen zu übersehen sein, dann aber auch vielleicht mit ihrer Hilfe ein tieferer Einblick in die Rolle von Plasma und Kern bei der Entwicklung der Organismen und Übertragung ihrer Eigenschaften gewonnen werden.

---

### III. Das Problem der Gifffestigung.

Unsere zuvor geschilderten Beobachtungen und Experimente scheinen nun auch geeignet, manches Licht auf die in den letzten 15 Jahren so viel behandelte und praktisch bedeutsam gewordene Frage der Gift- und Serumfestigung der Microorganismen zu werfen. Da wir unsere Ergebnisse bisher im wesentlichen nur unter dem Gesichtspunkte der allgemeinen Erbllichkeitsforschung dargestellt haben, so kam die speziellere Frage der Gifffestigung weniger zur

Geltung und soll daher hier noch kurz zusammenfassend behandelt werden:

Änderungen der Widerstandsfähigkeit von Paramäcien gegenüber arseniger Säure sahen wir auf prinzipiell verschiedene Weise entstehen: Einmal sind von vornherein Unterschiede der Resistenz verschiedener Rassen vorhanden, Unterschiede, die bei Selektion in Populationen eine gewisse Steigerung der Widerstandsfähigkeit gegenüber der arsenigen Säure hervortreten lassen können, die aber im allgemeinen doch nur verhältnismäßig geringfügig erscheinen. So war die „maxima tolerata“-Dosis für weitaus die meisten untersuchten Stämme 0,7—1 Proz. meiner  $\frac{1}{10}$  n-Lösung; die höchste, nur bei einem einzigen (unvorbehandelten) Stamme im Laufe von 10 Jahren festgestellte, vertragene Konzentration betrug nur 1,5 Proz.; andererseits gab es auch einen besonders empfindlichen Stamm, der nur eine maximale Konzentration von 0,3 Proz. aushalten konnte. Arbeitet man also nur mit unanalysierten Gemischen, Populationen, in denen zufällig gerade Individuen des empfindlichsten Stammes vorherrschen, daneben aber auch einzelne Infusorien der besonders widerstandsfähigen Rasse vorkommen, so müssen naturgemäß bei Einwirkung von arseniger Säure selbst in Konzentrationen, die von dem empfindlicheren Stamme noch gerade vertragen werden, die Individuen der resistenteren Rasse immer mehr zur Geltung kommen und den Charakter des Gemisches immer mehr bestimmen. Wird schließlich die Giftkonzentration in dem von uns gewählten Beispiele über 0,3 Proz. gesteigert, so bleiben nur noch die Infusorien der resistenteren Rasse lebens- und vermehrungsfähig, und die Paramäcien vertragen in solchem Versuche dann noch recht erhebliche weitere Steigerung der Giftkonzentration, in unserem Falle also etwa das Fünffache der ursprünglich scheinbar maximalen Dosis. Es wäre damit bei derartigem Misch-Ausgangsmaterial augenscheinlich eine sehr beträchtliche Giftfestigung im Laufe des Versuches erzielt, aber allein durch Selektion des von vornherein widerstandsfähigsten Klones ohne jede Veränderung der primär bereits vorhandenen Eigenschaften dieser Paramäcien.

Da bei den zuerst vorgenommenen Giftfestigungsversuchen mit Trypanosomen und anderen Microorganismen kein exakt analysiertes Ausgangsmaterial, keine isolierten Klone vorlagen, so war die Möglichkeit einer Erklärung der dabei beobachteten Giftfestigungen allein durch Selektion zunächst nicht von der Hand zu weisen, eine Erklärungsmöglichkeit, auf die bereits verschiedentlich, so auch von mir schon 1913 hingewiesen worden ist, und auf die neuerdings

speziell zur Deutung der vielfach beobachteten chininresistenten Malariafälle von manchen Untersuchern zurückgegriffen wird (RODENWALDT, ZIEMANN u. a.). In einzelnen Fällen mag auch die Giftfestigung mancher Infektionserreger in dieser Weise nur durch Selektion vorgetäuscht sein; ganz allgemein aber reicht eine solche Erklärung für die vorliegenden Beobachtungen und Versuche besonders bei Trypanosomen nicht aus. Denn einmal lehrt uns die Analyse unseres großen Infusorienmaterials, daß die Unterschiede in der Arsenresistenz verschiedener in der Natur vorkommender Rassen im allgemeinen ziemlich geringfügig sind und nur ganz ausnahmsweise, bei Vergleich der extremsten von den verschiedensten Fundorten stammenden Rassen, Werte erreichen, wie sie bei den Giftfestigungsversuchen leicht erzielt wurden. Dazu kommt aber noch, daß sich ganz entsprechend hochgradige Giftfestigungen auch bei Klonen von Trypanosomen (die man nach den Verfahren von OEHLER oder PROWAZEK unschwer erhält) und weiterhin unter Umständen bei ganz kurzer Einwirkungsdauer erzielen lassen, wie sie z. B. MORGENROTH als Chemoflexion beschrieben hat. Eine selektionistische Erklärung muß hier natürlich versagen.

EHRlich u. a. sprachen von experimentell hervorgerufenen Mutationen, vermochten aber keinerlei Beweis dafür beizubringen, daß es sich wirklich um im strengsten Sinne erbliche Umstimmungen, um Veränderungen des Genotypus handelte. Und im Lichte der bei unseren Paramäcien gewonnenen Aufklärung müssen wir die Deutung der Giftfestigungen als Mutationen auch für die Trypanosomen und anderen pathogenen Microorganismen ablehnen. Wir sehen dabei ganz davon ab, daß bei den Paramäcien durch äußere Einwirkung nur recht selten, und auch das nur bei Einwirkung auf ein ganz bestimmtes Stadium wirkliche Mutationen auftraten. Beachtenswerter erscheint schon der Umstand, daß derartige echte Mutationen nur relativ geringfügige Änderungen der Resistenz gegenüber der arsenigen Säure ergaben, durchweg Werte, die den Unterschieden entsprachen, wie wir sie bei verschiedenen Rassen fanden — also erheblich geringere Grade als die bei der experimentellen Giftfestigung beobachteten.

Höhere Grade der Giftfestigung, die mit der entsprechenden Erfahrung an Trypanosomen wohl vergleichbar sind, stellten sich dagegen bei den Paramäcien ausschließlich als Dauermodifikationen dar, und Dauermodifikationen waren auch sämtliche erzielten serumfesten Stämme meiner Infusorien. Bei genauerer Prüfung stimmen aber auch die Beobachtungen über die Festigung von Trypanosomen

aufs beste mit unseren Feststellungen über Dauermodifikationen überein: Hier wie dort sehen wir eine hochgradige, sowohl allmählich wie auch gelegentlich mit einem Male unter der Einwirkung von Giften oder spezifischen Seren auftretende Anpassung an diese schädigenden Außenfaktoren. Hier wie dort bleibt diese Umstimmung auch bei Ausschaltung der sie primär hervorrufenden Bedingungen lange Zeit durch eine große Anzahl von Teilungsschritten hindurch erhalten. Hier wie dort kommt es aber im Verlaufe mehr oder weniger langer Perioden vegetativer Vermehrung stets zu Rückschlägen zum ursprünglichen Verhalten, womit eben der Charakter der Giftfestigung auch bei den Trypanosomen als Dauermodifikation bewiesen wird, wie uns gerade unter ganz anderen theoretischen Anschauungen durchgeführte Versuchsreihen, wie die von BRAUN und TEICHMANN oder RITZ, klar zeigen. „Die einmal erworbene Serumfestigkeit wird also nicht dauernd vererbt. Sie stellt vielmehr einen Zwangszustand dar, der dem Trypanosoma durch die auf es wirkenden Schädlichkeiten sozusagen aufoktroiyert wird. Dieses ist daher bestrebt, sobald die äußeren Einflüsse wegfallen, sich der Veränderung wieder zu entledigen und zum Ausgangsstamm zurückzukehren.“ Dieser Schluß von BRAUN und TEICHMANN entspricht in jeder Hinsicht unseren Anschauungen über Dauermodifikationen! Bei den Infusorien war solche Klarstellung durch das Vorhandensein und die Auslösbarkeit von geschlechtlichen Prozessen wesentlich erleichtert, da die Arsenfestigungen niemals eine Conjugation überdauerten, die Serumfestigungen im allgemeinen schon durch eine Parthenogenese wieder eliminiert wurden. Bei den Trypanosomen ist das Auftreten von Befruchtungsvorgängen im Überträger zwar mehrfach beschrieben worden, aber doch recht zweifelhaft. Sollte es sich bestätigen, so hätten wir bereits eine weitere völlige Übereinstimmung in dem Verhalten der giftfesten Trypanosomen mit den entsprechenden Dauermodifikationen der Infusorien. Konnte doch GONDER zeigen, daß ein giftgefestigter Stamm von *Trypanosoma lewisi* nach Passage durch den Überträger seine Giftfestigkeit wieder vollständig verloren hatte. GONDER und EHRLICH sahen in diesem Rückschlage die Wirkung eines Befruchtungsvorganges im Überträger, ja bis zu einem gewissen Grade sogar einen indirekten Beweis für das Vorhandensein dieses vielfach angezweifelten geschlechtlichen Prozesses bei den Trypanosomen. Dieser Schluß erscheint allerdings nicht zwingend, denn, wie ich schon 1913 ausführte, braucht der Rückschlag in GONDER's Fall keineswegs die Folge eines Befruchtungsvorganges zu sein, sondern kann entsprechend

den Erfahrungen an unseren Paramäcien schon allein auf die Wirkung des schroffen Wechsels der äußeren Lebensbedingungen der Trypanosomen zurückgeführt werden, der bei der Passage durch den Überträger natürlich eintritt. Die Klärung dieser Spezialfrage dürfte wohl mit Hilfe der verbesserten Methoden der Trypanosomenkultur herbeigeführt werden können. Auf jeden Fall aber ist durch die genannten Versuche von GONDER eine weitere Parallele zwischen dem Verhalten der giftfesten Trypanosomen und Paramäcien gegeben, eine weitere Stütze für unsere Auffassung der Giftfestigkeiten auch bei den Trypanosomen als Dauermodifikation.

Die an unseren Paramäcien gewonnenen Ergebnisse erlauben aber nicht nur eine Erklärung der Erfahrungen an gift- und serumfesten Microorganismen, sondern sie zeigen uns auch, auf welchem Wege die nicht selten praktisch bedeutsame Aufhebung der Giftfestigkeit von Krankheitserregern anzustreben ist. Abgesehen von der Auslösung von geschlechtlichen Vorgängen ließ sich die Rückbildung der Dauermodifikationen durch schroffen Wechsel der Außenbedingungen stark beschleunigen; die durch chemische Einwirkungen hervorgerufene Veränderung vor allem auch durch andersartige chemische Agentien (die durch Calciumnitrat verursachten Dauermodifikationen durch Einwirkung von KCl). Auch bei den giftfestigten Krankheitserregern wäre also etwas Analoges zu versuchen, die Brechung ihrer gesteigerten Widerstandsfähigkeit durch möglichst schroffen Wechsel ihrer Lebensbedingungen, vor allem durch die Einwirkung völlig anderer als die primär verwandten, ja womöglich antagonistischer chemischer Verbindungen. Auf solche Möglichkeit wurde schon 1913 in der ersten Mitteilung über Dauermodifikationen verwiesen. Systematisch bearbeitet ist diese Frage bisher anscheinend noch nicht. Dagegen finden sich in der medizinischen Literatur bereits Angaben, die dafür sprechen, daß derartige Versuche auch auf praktische Erfolge rechnen könnten. Ich denke dabei vor allem an das mehrfach angegebene, wenn auch noch nicht ganz klagestellte Schwinden der Chininresistenz mancher jeder Chininbehandlung trotztenden Malariastämme nach Behandlung mit organischen Arsenverbindungen. Eine rein selektionistische Erklärung der resistenten Malariaformen kann mit solchen Beobachtungen natürlich nicht viel anfangen. Die Aufklärung der Dauermodifikationen lehrt uns auch derartige Erscheinungen ohne weiteres einordnen, verstehen und bewußt unserem praktischen Handeln dienstbar machen.

---



Wir haben bisher die Gifffestigung der Paramäcien nur als Variabilitäts- und Vererbungserscheinung untersucht und gewertet. Es liegt nun aber natürlich nahe, an unserm Objekte auch die Frage zu prüfen, worauf denn eigentlich die Arsenfestigung überhaupt beruht, eine Frage, die zwar von den uns hier beschäftigenden Problemen zunächst etwas abführt, die aber von so großem physiologischem und pharmakologischem Interesse ist, und dabei noch so wenig geklärt erscheint, daß ein kurzes Eingehen hierauf auch an dieser Stelle gerechtfertigt sein dürfte, zumal da gerade unsere Paramäcien auch in dieser Richtung manche Möglichkeiten experimenteller Untersuchung bieten.

Die Festigung eines Organismus gegen Arsen oder ein anderes Gift können wir uns prinzipiell in zweierlei Weise bedingt denken: entweder der gefestigte Organismus nimmt das Gift überhaupt nicht oder doch schlechter als der ungefestigte auf, oder aber, er hat die Fähigkeit gewonnen, das in gleicher Weise wie vom ungefestigten Körper aufgenommene Gift irgendwie unschädlich zu machen. Wie diese Unschädlichmachung erfolgt, ob durch andere Bindung, durch Abbau oder raschere Ausscheidung, ist eine sekundäre Frage.

Bei unseren arsenfesten Paramäcien läßt sich nun in folgender Weise relativ einfach prüfen, ob die Aufnahme des Arsens herabgesetzt ist:

Der Stamm  $\alpha$  wurde, wie wir gesehen haben, stets durch eine 1,0proz. Lösung unserer  $\frac{1}{10}$  n arsenigen Säure restlos abgetötet, während der aus ihm hervorgegangene Stamm  $\alpha$  B4 noch eine 3,5proz. Lösung ertrug, ohne erkennbar geschädigt zu werden. Von beiden Stämmen wurden nun Massenkulturen in Salatwasser angelegt und dann eine möglichst dichte Paramäcienaufschwemmung in 2proz. arseniger Säurelösung hergestellt. Die Infusorien des Ausgangsstammes werden darin innerhalb von 12—72 Stunden restlos abgetötet, die gefestigten Paramäcien erscheinen unverändert. Nach 10 Stunden werden beide Arsenaufschwemmkulturen durch ein Berkefeld-Filter filtriert und in das Filtrat von jeder von ihnen Paramäcien des ungefestigten Ausgangsstammes gebracht. Wenn die Arsenfestigung des Stammes  $\alpha$  B4 durch Verhinderung der Arsenaufnahme bedingt war, so konnte man also auf eine verschiedene Wirkung der beiden Filtrate rechnen. Wie die Tabelle 22 zeigt, erwies sich in der Tat die Lösung, in der die gefestigten Paramäcien gewesen waren, wesentlich giftiger als die, die normale ungefestigte Paramäcien passiert hatten. Noch auffälliger war der Unterschied bei Verwendung von nur 1,5proz. Lösung. Hier war die arsenige Säurelösung, in der die Normal-

infusorien abgetötet worden waren, hinterher für den gleichen Stamm relativ unschädlich, während durch die Lösung gleicher Konzentration, in der aber zuvor statt der Normaltiere gefestigte Paramäcien gewesen waren, später (nach Filtration) eingeführte normale Infusorien restlos abgetötet wurden (vgl. Tab. 22).

Tabelle 22.

Verhalten von Paramäcien in Filtraten von Giftlösungen, in denen der normale bzw. der gefestigte Stamm zuvor 10 Stunden verbracht hat.

| Stamm und Datum der Beobachtung  |           | Filtrat von $\alpha$ in 2proz. arseniger Säure   |          |          | Filtrat von $\alpha B_4$ in 2proz. arseniger Säure   |          |          |
|----------------------------------|-----------|--|----------|----------|--|----------|----------|
|                                  |           | Ansatz 1   | Ansatz 2 | Ansatz 3 | Ansatz 1   | Ansatz 2 | Ansatz 3 |
| " angesetzt am<br>21. April 1914 | 22. April | +  | +        | +        | ++   | ++       | +++      |
|                                  | 25. "     | +++  | +++      | +++      | ++++   | ⊕        | ⊕        |
|                                  | 28. "     | ++++   | ++++     | ⊕        | ⊕  | —        | —        |
|                                  |           | Filtrat von $\alpha$ in 1,5proz. arseniger Säure |          |          | Filtrat von $\alpha B_4$ in 1,5proz. arseniger Säure |          |          |
|                                  |           | Ansatz 1   | Ansatz 2 | Ansatz 3 | Ansatz 1   | Ansatz 2 | Ansatz 3 |
| " angesetzt am<br>10. Mai 1914   | 12. Mai   | +  | +        | +        | +  | +        | +        |
|                                  | 14. "     | ++   | ++       | ++       | +++  | ++++     | +++      |
|                                  | 17. "     | +++  | +++      | +++      | ⊕  | ⊕        | ⊕        |

All dies spricht natürlich sehr für eine Herabsetzung der Arsenaufnahme bei unseren arsenfesten Paramäcien.

Jedoch muß darauf hingewiesen werden, daß keineswegs alle Beobachtungen derart eindeutig und durchsichtig ausfielen. Bei einigen weiteren, in gleicher Weise mit den Stämmen  $\alpha$  und  $\alpha B_4$  angesetzten vergleichenden Versuche, bei denen die Paramäcien aber 15—20 Stunden in der Giftlösung verbracht hatten, konnte keinerlei Unterschied in der Giftigkeit der beiden Lösungen von arseniger Säure festgestellt werden, durch die große Mengen von  $\alpha$  bzw.  $\alpha B_4$ -Individuen geschickt worden waren. Und noch eigenartiger war das Ergebnis mehrerer vergleichender Prüfungen, bei denen ich die Infusorien 48 Stunden oder noch länger in der arsenigen Säure gelassen hatte: Denn jetzt erwies sich das Filtrat von  $\alpha B_4$ , also des gefestigten Zweiges, wesentlich ungiftiger als das entsprechende Filtrat von  $\alpha$ ! (vgl. Tab. 23).

Tabelle 23.

Vergleichende Prüfung wie in Tabelle 22. Filtrat nach 48stündigem Aufenthalt der Paramäcien in der Giftlösung hergestellt.

| Stamm und Datum der Beobachtung                          | Filtrat von $\alpha$ in 2proz. arseniger Säure |          |          | Filtrat von $\alpha$ B4 in 2proz. arseniger Säure |          |          |
|--|--|----------|----------|---|----------|----------|
|  | Ansatz 1                                       | Ansatz 2 | Ansatz 3 | Ansatz 1  | Ansatz 2 | Ansatz 3 |
| $\alpha$ angesetzt am<br>18 April 1914                   | 19. April                                      | +        | ++       | +   | +        | +        |
|  | 23. „  | +++      | ++++     | +++   | +        | ++       |
|  | 25. „  | ⊕        | ⊕        | ++++  | ++       | ++       |
| <i>e. P. aurelia</i> an-<br>gesetzt am<br>29. April 1915 | Filtrat von $\alpha$ in 2proz. arseniger Säure |          |          | Filtrat von $\alpha$ B4 in 2proz. arseniger Säure |          |          |
|  | Ansatz 1                                       | Ansatz 2 | Ansatz 3 | Ansatz 1  | Ansatz 2 | Ansatz 3 |
|  | 30. April                                      | ++       | +        | ++  | +        | +        |
|  | 2. Mai   | +++      | +++      | ⊕   | ++       | ++       |
| 7. „   | ⊕  | ⊕        | —        | ++  | +++      | +++      |

Somit liegen der Arsenfestigung unserer Paramäcien offenbar doch kompliziertere Vorgänge zugrunde. Zunächst scheint es sich nicht um eine dauernde Herabsetzung, sondern nur um eine Verlangsamung der Arsenaufnahme zu handeln; — dies würde den Unterschied in der Giftwirkung des Filtrats nach 10- bzw. nach 20stündigem Aufenthalte der Infusorien verständlich machen, nicht dagegen das Verhalten der Lösung, in der die gefestigten Paramäcien 48 Stunden und länger verweilt hatten.

Andererseits sprechen die Beobachtungen an jahrelang im Laboratorium geführten und, wie wir sahen, gegen äußere Schädigungen dabei etwas widerstandsfähiger werdenden Paramäcienkulturen auch hier für das Zustandekommen einer Verlangsamung der Arsenaufnahme, konnten wir doch bei verschiedenen Klonen feststellen, daß unter den Bedingungen der normalen Laboratoriumszüchtung im Laufe der Jahre zwar keine Gewöhnung an eine höhere Konzentration von arseniger Säure erfolgte, wohl aber eine Hinausschiebung der Abtötungszeit bei gleichen Giftdosen. Von der erworbenen Giftfestigkeit war diese Verzögerung der Abtötung aber durchaus zu scheiden. Es mußte daher bei unseren giftfesten Paramäcien neben der Verlangsamung der Arsenaufnahme noch ein weiterer Faktor wirksam werden. Nach Lage der Dinge kann es sich dabei nur um

eine Umwandlung der arsenigen Säure handeln. Damit werden alle zunächst so widerspruchsvoll erscheinenden Ergebnisse unserer vergleichenden Untersuchungen verständlich: In der ersten Zeit nach Übertragung in eine Lösung von arseniger Säure kommt bei den gefestigten Paramäcien gegenüber dem unbehandelten Ausgangsstamme vor allem die Herabsetzung der Arsenaufnahme zur Geltung; — das in dieser Periode gewonnene Filtrat vom gefestigten Zweige enthält demgemäß mehr arsenige Säure, ist also giftiger als die gleiche, aber von normalen Paramäcien passierte Lösung (vgl. Tab. 22). Nach einiger Zeit, bei unseren Versuchen nach 15—20 Stunden, wird die Wirkung der verlangsamten Arsenaufnahme durch den nebenhergehenden Prozeß der Entgiftung der arsenigen Säure ausgeglichen — die Filtrate vom normalen und vom gefestigten Zweige erscheinen dann ungefähr gleich giftig. Werden endlich die Paramäcien noch länger in der Lösung der arsenigen Säure belassen, so tritt dieser zweite Prozeß, die Umwandlung der arsenigen Säure, immer mehr hervor — das Filtrat von den gefestigten Infusorien wird weniger giftig als die entsprechende Lösung, in der normale ungefestigte Paramäcien gewesen waren (vgl. Tab. 23).

Welcher Art die Umwandlung der arsenigen Säure ist, muß chemischer Untersuchung vorbehalten bleiben. Nach den sonst vorliegenden Erfahrungen über das Verhalten von Arsenverbindungen im tierischen Körper wird man wohl zunächst an eine Umwandlung des dreiwertigen As in relativ ungiftige fünfwertige As-Verbindungen denken. Weiterhin könnte aber auch die Bildung flüchtiger Arsenverbindungen eine gewisse Rolle spielen, deren Auftreten bei längerem Aufenthalte sehr zahlreicher gefestigter Paramäcien in Lösungen von arseniger Säure in Salatwasser oder Bouillon gelegentlich in der Tat am Geruch wahrgenommen werden konnte.

In mancher Hinsicht stimmen unsere experimentellen Ergebnisse somit mit den theoretischen Vorstellungen überein, die EHRLICH entwickelt hat. Doch will es mir nicht zweckmäßig erscheinen, die hier relativ klar zu überschauenden Verhältnisse durch die Einführung hypothetischer Chemoceptoren u. dgl. zu komplizieren, dürfte doch ein tieferes Verständnis nicht durch derartige Bilder, sondern nur durch exaktere physikalisch-chemische Untersuchungen zu gewinnen sein.

In ihrer Gesamtheit führen also die angestellten Untersuchungen zu dem Schlusse, daß bei der Arsenfestigung der Paramäcien die Herabsetzung der Arsenaufnahme zwar eine sehr wesentliche, aber keineswegs die einzige Rolle spielt. Es kann sich dabei auch

nicht um eine dauernde Herabsetzung, sondern vor allem um eine wesentliche Verlangsamung der Arsenaufnahme handeln, eine Vorlangsamung, die den gefestigten Infusorien weiterhin die Möglichkeit zu bieten scheint, die arsenige Säure in unschädliche Verbindungen überzuführen.

Natürlich bedarf die Frage nach dem Zustandekommen und den Bedingungen der Arsenfestigung noch weiterer Prüfung, bei der mit den biologischen auch chemische Untersuchungen Hand in Hand gehen müssen — Untersuchungen, die ich bei Kriegsbeginn leider abbrechen mußte, und inzwischen aus Mangel an brauchbaren arsenfesten Stämmen nicht wieder aufnehmen konnte<sup>1)</sup>. An dieser Stelle sollte denn auch noch kein endgültiges Resultat gegeben, sondern nur ein Weg und manche Anhaltspunkte für die klarere Lösung dieser Fragen gezeigt werden, ein Weg, der mit dazu beitragen mag, die gewonnenen komplexen vorläufigen Begriffe der Variabilitäts- und Erblichkeitsforschung, zunächst Modifikationen und Dauermodifikationen, hier allmählich mit chemisch-physikalisch greifbarerem Inhalte zu erfüllen.

Berlin-Dahlem, Kaiser-Wilhelm-Institut für Biologie.

---

<sup>1)</sup> Nachtrag: Derartige chemische Untersuchungen sind inzwischen von S. NEUSCHLOSZ (Untersuchungen über die Gewöhnung an Gifte. III. Das Wesen der Festigung von Protozoen gegen Arsen und Antimon. PFLÜGER'S Arch. Bd. 178 1920) durchgeführt worden, der dabei tatsächlich eine Umwandlung von dreiwertigem As in fünfwertige Verbindungen durch gefestigte Paramäcien nachweisen konnte. Die auf Grund unserer biologischen Prüfungen entwickelten Anschauungen finden damit im wesentlichsten Punkte die erwünschte Bestätigung durch die chemische Analyse! Ein näheres Eingehen hierauf und eine Aufklärung der in einzelnen Punkten sonst bestehenden (und offenbar auf etwas verschiedene Versuchsbedingungen zurückzuführenden) Unterschiede in unseren Ergebnissen ist hier leider nicht mehr möglich, da mir die Veröffentlichung von NEUSCHLOSZ erst nach vollendeter Drucklegung der vorliegenden Arbeit zu Gesichte kam.

## Literaturverzeichnis.

- ACKERT, J. (1916): On the effect of selection in *Paramecium*. *Genetics* Vol. 1.
- BAIL, O. (1916): Untersuchungen über die Veränderlichkeit von Choleravibrionen. *Centralbl. f. Bakt. Abt. I* Bd. 77.
- BARBER, M. (1907): On heredity in certain microorganism. *Kansas Univers. Science Bull.* Vol. 4.
- BAUR, E. (1920): Einführung in die experimentelle Erblichkeitslehre. 3. Aufl. Berlin (Bornträger).
- BAERTHLEIN, K. (1912): Über Mutationserscheinungen bei Bakterien. *Arb. a. d. kais. Gesundheitsamt* Bd. 40.
- (1918): Über bakterielle Variabilität, insbesondere sog. Bakterienmutationen. *Centralbl. f. Bakt. Abt. I* Bd. 81.
- BEIJERINCK, M. W. (1912): Mutation bei Mikroben. *Folia Mikrobiologica* Vol. 1.
- BERNHARDT, G. (1912): Beiträge zur Morphologie und Biologie der Ruhrbakterien. *Zeitschr. f. Hyg.* Bd. 71.
- und L. PANETH (1914): Über Variabilität pathogener Bakterien. *Zeitschr. f. Hyg.* Bd. 79.
- BRAUN, H. und M. FEILER (1914): Über Serumfestigkeit des *Typhusbacillus*. *Zeitschr. f. Immunitätsforsch.* Bd. 21.
- BRAUN, H. und E. TRICHMANN (1912): Versuche zur Immunisierung gegen Trypanosomen. Jena (G. Fischer).
- BURRI, R. (1910): Über scheinbar plötzliche Neuerwerbung eines bestimmten Gärungsvermögens durch Bakterien der Coligruppe. *Centralbl. f. Bakt. Abt. II* Bd. 28.
- CALKINS, G. N. (1902): The life-cycle of *Paramecium caudatum*. *Arch. f. Entwicklungsmech.* Bd. 15.
- (1906): *Paramecium aurelia* and *Paramecium caudatum*. *Biol. Studies by the pupils of W. T. Sedgwick, Chicago.*
- (1920): *Uroleptus mobilis*. III. A study in vitality. *Journ. exper. Zoology* Vol. 31. (Die ersten beiden Teile waren mir leider noch nicht zugänglich.)
- and CULL, S. W. (1907): The conjugation of *Paramecium aurelia* (*caudatum*). *Arch. f. Protistenk.* Bd. 10.
- and GREGORY, L. H. (1913): Variations in the progeny of a single exconjugant of *Paramecium caudatum*. *Journ. exper. Zoology* Vol. 15.
- COHN, E. (1903): Über die Immunisierung von Typhusbacillen gegen die baktericiden Kräfte des Serums. *Zeitschr. f. Hyg.* Bd. 45.
- CORRENS, C. (1908): Vererbungsversuche mit blaß(gelb)grünen und buntblättrigen Sippen bei *Mirabilis Jalapa*, *Urtica Pilulifera* und *Lunaria Annuua*. *Zeitschr. f. induct. Abstammungs- u. Vererbungslehre* Bd. 1.
- (1909): Zur Kenntnis der Rolle von Kern und Plasma bei der Vererbung. *Ibid.* Bd. 2.
- DOBELL, C. (1913): Some recent work on mutations in microorganisms. *Journ. of Genetics* Vol. 2.
- (1914): A commentary on the genetics of the Ciliate Protozoa. *Ibid.* Vol. 4.
- EHRLICH, P. (1909): Über die neuesten Ergebnisse auf dem Gebiete der Trypanosomenforschung. *Arch. f. Schiffs- u. Tropenhyg.* Bd. 13 Beiheft 6.

- EHRlich, P. u. GONDER, R. (1913): Chemotherapie. in: Handb. d. pathogenen Microorganismen Bd. 3 2. Aufl. Jena (G. Fischer).
- EISENBERG, P. (1912/14): Untersuchungen über die Variabilität der Bakterien I—V. Centralbl. f. Bakteriologie. Abt. I Bd. 63, 66, 73.
- (1914): Über Mutationen bei Bakterien und anderen Microorganismen. in: Ergebnisse d. Immunitätsforsch. Bd. 1.
- ERDMANN, R.H. (1920): Endomixis and size variations in pure bred lines of *Paramecium aurelia*. Arch. f. Entwicklungsmech. Bd. 46.
- FÜRST, TH. (1914): Untersuchungen über Variationserscheinungen beim *Vibrio Finkler-Prior*. Arch. f. Hyg. Bd. 83.
- GILDEMEISTER, E. (1916): Über Variationserscheinungen des *Typhusbacillus*. Centralbl. f. Bakt. Abt. I Bd. 78.
- (1917): Über Variabilitätserscheinungen bei *Bacterium coli*. Ibid. Bd. 79.
- GONDER, R. (1912): Untersuchungen über arzneifeste Microorganismen. Ibid. Bd. 61.
- GOTSCHLICH, E. (1912): Allgemeine Morphologie und Biologie der pathogenen Bakterien. in: Handb. d. pathog. Microorganismen 2. Aufl. Bd. 1. Jena (G. Fischer).
- HANSEN, E. (1906/07): Oberhefe und Unterhefe. Studien über Variabilität und Erbllichkeit. Centralbl. f. Bakt. Abt. II Bd. 15 u. 18.
- HARTMANN, M. (1921): Praktikum der Protozoologie 4. Aufl. Jena (G. Fischer).
- HEGNER, R. W. (1919): Heredity variation and the appearance of diversities during the vegetative reproduction of *Arcella dentata*. Genetics Vol. 4.
- (1920): The relations between nuclear number, chromatin mass, cytoplasmic mass and shell characteristics in four pieces of the genus *Arcella*. Journ. exper. Zool. Vol. 30.
- HERTWIG, R. (1889): Über die Conjugation der Infusorien. Abhandl. d. kgl. Bayr. Akad. d. Wiss. Abt. II Bd. 17.
- (1914): Über Parthenogenese der Infusorien und die Depressionszustände der Protozoen. Biol. Centralbl. Bd. 34.
- JENNINGS, H. S. (1908): Heredity, variation and evolution in Protozoa. I. The fate of new structural characters in *Paramecium*. Journ. exper. Zool. Vol. 5.
- (1908a): Idem. II. Heredity and variation in size and form in *Paramecium* with studies of growth, environmental action and selection. Proc. Americ. Philos. Soc. Vol. 47.
- (1911): Assortative mating, variability and inheritance of size, in the conjugation of *Paramecium*. Journ. exper. Zool. Vol. 11.
- (1913): The effect of conjugation in *Paramecium*. Ibid. Vol. 14.
- (1916): Heredity, variation and the results of selection in the uniparental reproduction of *Diffugia corona*. Genetics Vol. 1.
- and LASHLEY, K. S. (1913): Biparental inheritance of size in *Paramecium*. Journ. exper. Zool. Vol. 15.
- — (1913a): Biparental inheritance and the question of sexuality in *Paramecium*. Ibid. Vol. 15.
- JOLLOS, V. (1913): Experimentelle Untersuchungen an Infusorien. Biol. Centralbl. Bd. 33.
- (1913a): Über die Bedeutung der Conjugation bei Infusorien. Arch. f. Protistenk. Bd. 30.

- JOLLOS, V. (1914): Variabilität und Vererbung bei Microorganismen. Zeitschr. f. indukt. Abstammungs- u. Vererbungslehre Bd. 12.
- (1916): Die Fortpflanzung der Infusorien und die potentielle Unsterblichkeit der Einzelligen. Biol. Centralbl. Bd. 36.
- (1920): Experimentelle Vererbungsstudien an Infusorien. Zeitschr. f. indukt. Abstammungs- u. Vererbungslehre Bd. 24.
- KOLLE, W. (1901): Bericht über die Tätigkeit der zu Studien über Pest eingerichteten Station des Instituts für Infektionskrankheiten 1899/1900. Zeitschr. f. Hyg. Bd. 36.
- KOWALENKO, A. (1910): Studien über sog. Mutationserscheinungen bei Bakterien, unter besonderer Berücksichtigung der Einzellkultur. Ibid. Bd. 66.
- LEHMANN, E. (1916): Bakterienmutationen. Allogonie, Klonumbildungen. Centralbl. f. Bakt. Abt. I Bd. 77.
- LEWIN, K. R. (1910): Nuclear relations of Paramecium caudatum during the asexual period. Proc. Cambridge Phil. Soc. Vol. 16.
- MC CLENDON, J. F. (1909): Protozoan studies. Journ. exper. Zool. Vol. 6.
- MARKS, L. H. (1910): Über einen arsenfesten Bakterienstamm. Zeitschr. f. Immunitätsforsch. Bd. 6.
- MASSINI, R. (1907): Über einen in biologischer Beziehung interessanten Colistamm. Arch. f. Hyg. Bd. 61.
- MAUPAS, E. (1888): Recherches expérimentales sur la multiplication des Infusoires ciliés. Arch. zool. expér. T. 6.
- MIDDLETON, A. R. (1915): Heritable variations and the result of selection in the fission rate of Stylonychia pustulata. Journ. exper. Zool. Vol. 19.
- (1918): Heritable effects of temperature differences on the fission rate of Stylonychia pustulata. Genetics Vol. 3.
- MÜLLER, R. (1912): Bakterienmutationen. Zeitschr. f. indukt. Abstammungs- u. Vererbungslehre Bd. 8.
- OEHLER, R. (1913): Zur Gewinnung reiner Trypanosomenstämme. Centralbl. f. Bakt. Abt. I Bd. 70.
- POPOFF, M. (1908/09): Experimentelle Zellstudien. I, II. Arch. f. Zellforschung Bd. 1 u. 3.
- PRINGSHEIM, H. (1910): Die Variabilität niederer Organismen. Berlin (J. Springer).
- PROWAZEK, S. v. (1916): Zur Morphologie und Biologie von Colpidium colpoda. Arch. f. Protistenk. Bd. 36.
- RODENWALDT, E. (1919): Zur Frage der Chininresistenz der Plasmodien der menschlichen Malaria. Leipzig (J. A. Barth).
- ROOT, F. M. (1918): Inheritance in the asexual reproduction of Centropyxis aculeata. Genetics Vol. 3.
- SAISAWA, K. (1913): Über den modifizierenden Einfluß von kohlehydrathaltigen Nährböden auf Bakterien. Zeitschr. f. Hyg. Bd. 74.
- SALZMANN, M. (1915): Ein Beitrag zur Bakterienmutation. Centralbl. f. Bakt. Abt. I Bd. 75.
- SCHIEHMANN, E. (1912): Mutationen bei Aspergillus niger. Zeitschr. f. indukt. Abstammungs- u. Vererbungslehre Bd. 8.
- SCHIERBECK, N. P. (1900): Über die Variabilität der Milchsäurebakterien mit Bezug auf die Gärungsfähigkeit. Arch. f. Hyg. Bd. 38.
- SCHMITZ, K. E. F. (1916): Die Verwandlungsfähigkeit der Bakterien. Centralbl. f. Bakt. Abt. I Bd. 77.



- SEIFFERT, G. (1912): Über Mutationserscheinungen bei künstlich giftfest gemachten Colistämmen. Zeitschr. f. Hyg. Bd. 71.
- SOBERNHEIM, G. u. SELIGMANN, E. (1910): Beiträge zur Biologie der Enteritiskakterien. Zeitschr. f. Immunitätsforsch. Bd. 6.
- SÖRENSEN, E. (1912): Eine Untersuchungsreihe über die Veränderung einer Urinbakterie in den menschlichen Harnwegen. Centralbl. f. Bakt. Abt. I Bd. 62.
- SPEK, J. (1920): Experimentelle Beiträge zur Kolloidchemie der Zellteilung. Kolloidchem. Beihefte Bd. 12.
- STOCKING, J. R. (1915): Variations and inheritance of abnormalities occurring after conjugation in *Paramecium caudatum*. Journ. exper. Zool. Vol. 19.
- TORNIESSEN, E. (1913): Über Wesen und Ursache der Mutation bei Bakterien. Centralbl. f. Bakt. Abt. I Bd. 69.
- (1914/15): Über Vererbung und Variabilität bei Bakterien. I, II. Ibid. Bd. 73, 75.
- WISSELINGH, C. VAN (1920): Über Variabilität und Erbllichkeit. Zeitschr. f. induct. Abstammungs- und Vererbungslehre Bd. 22.
- WOLF, F. (1909): Über Modifikationen und experimentell ausgelöste Mutationen von *Bacillus prodigiosus* und anderen Schizophyten. Zeitschr. f. induct. Abstammungs- und Vererbungslehre Bd. 2.
- WOLTERECK, R. (1911): Über Veränderung der Sexualität bei Daphniden. Intern. Revue d. gesamten Hydrobiologie Bd. 4.
- (1911 a): Beitrag zur Analyse der „Vererbung erworbener Eigenschaften“. Verhandl. d. Deutsch. Zool. Ges. 1911.
- WOODRUFF, L. L. and ERDMANN, RH. (1914): A normal periodic reorganisation process without cell fusion in *Paramecium*. Journ. exper. Zool. Vol. 17.
- ZWEIBAUM, J. (1912): Les conditions nécessaires et suffisantes pour la conjugaison du *Paramecium caudatum*. Arch. f. Protistenk. Bd. 26.

Nachdruck verboten.  
Übersetzungsrecht vorbehalten.

(Aus dem Kaiser Wilhelm-Institut für Biologie in Berlin-Dahlem.)

**Untersuchungen  
über die Morphologie und Physiologie des Form-  
wechsels der Phytomonadinen (Volvocales).**  
**III. Mitt.: Die dauernd agame Zucht von *Eudorina elegans*,  
experimentelle Beiträge zum Befruchtungs- und Todproblem.**

Von  
**Max Hartmann.**

(Hierzu Tafel 1 u. 2 und 7 Textfiguren.)

**Inhaltsübersicht.**

|  | Seite |
|--|-------|
| Einleitung . . . . .   | 223   |
| A. Spezieller Teil . . . . .   | 225   |
| 1. Die Morphologie und Cytologie der agamen Generation von <i>Eudorina elegans</i> . . . . . | 225   |
| 2. Die äußeren Bedingungen der agamen Kultur von <i>Eudorina elegans</i> . . . . .           | 233   |
| a) Die normalen Kulturbedingungen . . . . .  | 233   |
| b) Anormale Bedingungen und ihre morphogenetischen Folgen . . . . .                          | 246   |
| 3. Die dauernd agame Zählkultur von <i>Eudorina elegans</i> ; Zuchtprotokolle . . . . .      | 250   |
| B. Allgemeiner Teil . . . . .  | 258   |
| 1. Die Problemlage . . . . .   | 258   |
| 2. Das Befruchtungsproblem . . . . .   | 268   |
| 3. Das Todproblem . . . . .  | 271   |
| Literaturverzeichnis . . . . .   | 284   |
| Tafelerklärung . . . . .   | 287   |

„Denn es kommt in der Wissenschaft alles auf die richtige  
Fragstellung an, weil von ihr auch die Lösung abhängt.“  
BRUNO BAUCH, Philosophie der exakten Wissensch. S. 17.

**Einleitung.**

Als 3. Veröffentlichung über die Morphologie und Physiologie des Formwechsels der Volvocineen war eine Untersuchung über speziell entwicklungsphysiologische Fragen, hauptsächlich bei *Gonium*, vorgesehen (Programm s. HARTMANN 1918). Die Hauptversuche waren schon in den Jahren 1915, 1916 und 1917 durchgeführt worden, doch hatte ich den Wunsch, dieselben vor der Veröffentlichung nochmals.

zu wiederholen und durchzuprüfen. Äußere Gründe haben diese Wiederholung der Versuche zunächst verschoben, und bei ihrer Wiederaufnahme wurden dann neue Resultate gezeitigt, die wieder weitere neue Versuche und Prüfungen notwendig machten, so daß die Veröffentlichung nochmals zurückgestellt wurde. Inzwischen hatten sich die Bedingungen für die dauernde agame Kultur von *Eudorina elegans*, über deren Möglichkeit sowie Bedeutung für das Befruchtungs- und Todproblem schon in der II. Mitteilung vorläufig berichtet worden war (HARTMANN 1917), weiter aufklären und verbessern lassen. Vor allem gelang es, den letzten inkonstanten Außenfaktor, die Beleuchtung durch Tageslicht, durch eine gleichmäßige künstliche Lichtquelle zu ersetzen. Die Teilungsrate konnte durch diese Versuchsbedingungen nun völlig konstant gestaltet werden, und da inzwischen unter derartig gleichmäßigen Kulturbedingungen die Zahl der Generationen bereits über 1300 gestiegen ist, dürften sich nun auch die letzten möglichen Einwände gegen die theoretischen Folgerungen aus den Ergebnissen dieser Dauerkulturen beseitigen lassen.

Die vorliegende Arbeit bringt daher den weiteren Bericht über den Verlauf der Zählkultur sowie die genauen Angaben über die äußeren Bedingungen und Versuchsanordnungen für die dauernde agame Kultur, über die die frühere Veröffentlichung überhaupt noch keine Angaben enthalten hatte. Ergänzt wurden diese Versuche durch die Untersuchung der Morphologie und Cytologie der Teilungsvorgänge von *Eudorina* unter derartig normalen wie auch unter künstlich veränderten Bedingungen, bei denen Depressionen und überstürzte Teilungen auftraten, um auch nach dieser Richtung hin von vornherein eventuelle Einwände entkräften zu können.

Dadurch hofft die Arbeit in der Frage der sog. Unsterblichkeit der Protozoen, in der Form, wie sie bisher allein experimentell zu lösen versucht wurde, zu einem endgültigen Entscheid gelangt zu sein. Wie schon in der II. Mitteilung hervorgehoben wurde, handelt es sich allerdings bei allen bisherigen experimentellen Untersuchungen nicht um das eigentliche Todproblem, sondern um ein Befruchtungsproblem, nämlich um die Frage, „ob die Befruchtung als eine Art Verjüngungs- oder Regulationsvorgang zu beurteilen sei, hervorgerufen oder bedingt durch ein Altern, wenn auch nicht der Individuen, so doch der Generationen“. Ja, ganz sauber physiologisch ausgedrückt, muß die Fragestellung, deren Lösung diese Arbeit wie alle bisherigen experimentellen Vorläufer gewidmet ist, so lauten: „ist es möglich, Organismen, die in der freien Natur regel-

mäßig geschlechtliche Fortpflanzung neben einer ungeschlechtlichen aufweisen, dauernd ungeschlechtlich zu züchten ohne jegliche Schädigung, Depression oder irgendwelche anderen regulierenden Zellvorgänge als die, welche bei der gewöhnlichen Zell- und Kernteilung sich finden“ (HARTMANN 1917). Die eindeutige klare Beantwortung dieser physiologischen Frage soll uns allerdings in einem allgemeinen Teil dann nicht nur die Möglichkeit geben, zur sog. Verjüngungshypothese der Befruchtung Stellung zu nehmen, sondern auch zugleich als Ausgangspunkt dienen zur Erörterung des so viel diskutierten und so häufig mißverstandenen Problems der sog. potentiellen Unsterblichkeit und des physiologischen Todes bei den Protozoen.

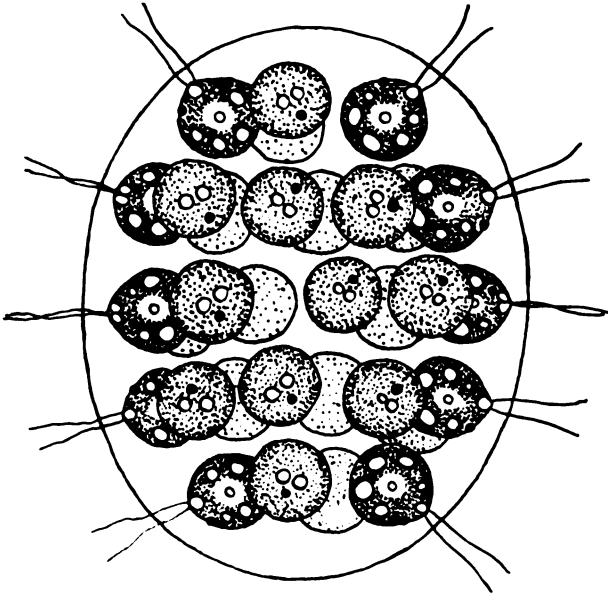
## A. Spezieller Teil.

### 1. Die Morphologie und Cytologie der agamen Generation von *Eudorina elegans*.

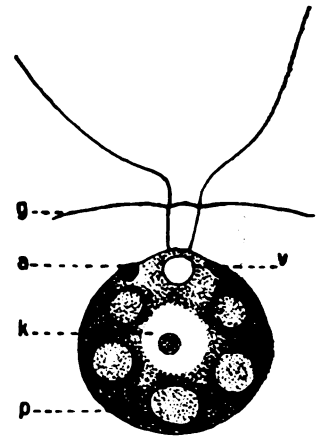
Ehe wir an die Besprechung der experimentellen Untersuchungen herantreten, sei eine Schilderung der Morphologie und Cytologie der agamen Vermehrung von *Eudorina* gegeben, da eine genaue Kenntnis derselben natürlich für die Beurteilung der Kulturversuche von Wichtigkeit ist. Bei der Herstellung und Untersuchung der cytologischen Präparate hatte ich mich in weitem Maße der Mitarbeit von Herrn Dr. BĚLAŘ zu erfreuen, der auch die Abbildungen auf Taf. 2 hergestellt hat. Es ist mir eine angenehme Pflicht, ihm auch an dieser Stelle nochmals meinen wärmsten Dank auszusprechen.

Eine normale Kolonie von *Eudorina* besteht aus 32 Zellen, die in einer Gallerthohlkugel, richtiger Ellipsoid, eingebettet sind. Es ist ganz fraglos, daß auch bei *Eudorina*, wie bei *Volvox*, eine Polarität der ellipsoiden Kolonie vorhanden ist und daß die Einzelzellen in ganz bestimmter Weise angeordnet sind. Das haben schon HENFREY (1856) und CARTER (1858) richtig beschrieben und abgebildet, während die späteren Untersucher meist nichts darüber mitteilten, offenbar weil ihnen, wie auch ihre Abbildungen zeigen, nicht ganz „normales“ Material vorgelegen hat. Die Einzelzellen sind in der Längsachse des Ellipsoids deutlich in 5 Kränzen angeordnet. Der vordere und hintere Zellkranz enthält je 4 Zellen, die drei mittleren Kränze je

8 Zellen (Fig. 1, 3, 6 rechts und Textfig. A). Wirklich normale Kolonien weisen immer die 32 Zellen in dieser Anordnung auf. Die Polarität der Kolonie und Anordnung der Einzelzellen stimmt somit fast ganz mit der von *Pleodorina illionensis* überein (MERTON 1908). Aus ziemlich geringfügigem Anlaß kann aber ein Teilungsschritt unterbleiben und auf diese Weise eine sonst normal aussehende 16zellige Kolonie entstehen, die aus einem vorderen und hinteren Kranz von je 4 Zellen und 2 mittleren von je 4 Zellen besteht. Doch zeigt das Auftreten solcher Kolonien, daß irgend etwas in den Außenbedingungen nicht ganz in Ordnung ist, und meist findet sich dann auch bei diesen 16zelligen Kolonien die regelmäßige An-



Textfig. A 1.



Textfig. A 2.

Textfig. A. 1. Normale 32zellige Kolonie von *Eudorina elegans*, halbschematisch, Anordnung der Einzelzellen in 5 Kranzen. Vergr. 500 $\times$ . 2. Einzelzelle bei stärkerer Vergrößerung (1150 $\times$ ), a Augenfleck, g Gallerthülle, k Kern, p Pyrenoide, v kontraktile Vakuole.

ordnung etwas gestört, ein weiteres Zeichen anormaler Außenbedingungen. Auch 32zellige Kolonien findet man sehr häufig in der freien Natur mit derart gestörter Anordnung der Zellen. So sind die in der Literatur weitverbreiteten Abbildungen von STEIN und GÖBEL solche nicht ganz „normale“ 32- und 16zellige Kolonien, und der neuerdings von DOFLEIN (1919) gegebenen Abbildung lag offen-

bar sogar eine schwer geschädigte 16 zellige Kolonie (Depressionsform, s. unten S. 249) zugrunde.

Die am vorderen Pol liegenden 4 Zellen sind häufig etwas kleiner als die übrigen. Bei jungen Kolonien ist das besonders gut zu sehen (s. Fig. 6 rechte Kolonie). Meist bleiben diese 4 vorderen Zellen bei der Teilung auch etwas zurück. Schon auf der weitverbreiteten Abbildung von GÖBEL ist das ersichtlich und ich fand das sehr häufig. Der vordere Pol ist gegen den hinteren meist noch dadurch ausgezeichnet, daß die Gallertgrenze am ersteren völlig glatt verläuft, während sie am Hinterende häufig leicht wellenförmige Ausbuchtungen aufweist (Fig. 4), eine Erscheinung, die ebenfalls schon CARTER 1858 beobachtet hatte, während alle späteren Untersucher mit Ausnahme von CHODAT 1902 und CONRAD 1913 nichts davon angegeben haben. Die einzelnen Zellen liegen in der Gallerte völlig isoliert und im Gegensatz zu *Pandorina* ziemlich voneinander entfernt. Eine Verbindung der einzelnen Zellen durch Plasmodesmen, wie sie neuerdings CONRAD nach Analogie mit *Volvox* angegeben, war bei unseren Stämmen nicht vorhanden. Weder im Leben noch in gut fixierten und gefärbten Präparaten konnte irgend etwas Derartiges beobachtet werden. Vielleicht hat sich CONRAD durch feine Falten in der Gallerte, die leicht vorkommen, täuschen lassen.

Normale Kolonien von *Eudorina* bewegen sich immer in der oben angegebenen Orientierung, indem sie sich um die Längsachse langsam drehend nach vorwärts schrauben. Die Drehrichtung ist gewöhnlich nach links gerichtet. Die Verhältnisse sind also ganz dieselben, wie sie für *Volvox* schon von anderen Autoren beschrieben worden sind. Wie KLEIN für *Volvox* festgestellt hat, liegt auch bei *Eudorina* während der Bewegung die Längsachse nicht horizontal, sondern ist am vorderen Pol leicht aufwärts gerichtet. Bei unregelmäßigen Kolonien fällt natürlicherweise diese normale Bewegungsrichtung weg, so daß die geschilderte Regelmäßigkeit der Bewegung dort nicht beobachtet werden kann.

Die einzelne Zelle ist kugelig bis leicht birnförmig gebaut und ausgewachsen etwa  $25 \mu$  lang und  $21 \mu$  breit. Die Zellmembran liegt dem Protoplasten dicht an. Am vorderen Pol entspringen zwei gleich lange Geißeln, die an zwei Basalkörpern inseriert sind und durch die Gallerte nach außen hervorragen (Fig. 3, 4, 6). Die Basalkörper sind durch zwei feine Rhizoplasten mit der Kernmembran in der Regel dauernd verbunden (Fig. 10, 11, 20, 24—26). Ober- und unterhalb der Rhizoplasten liegt je eine pulsierende Vakuole,

seitlich davon der Augenfleck (Textfig. A 2 u. Fig. 10 u. 11). In Seitenansicht der Zelle bei Einstellung auf die beiden Rhizoplasten sind die Vakuolen überhaupt nicht resp. bei höherer oder tieferer Einstellung nur eine zu sehen. Umgekehrt sind bei Ansicht der Zelle von oben oder unten beide Vakuolen sichtbar, dagegen nur 1 Rhizoplast, da sich dieselben überlagern (vgl. Fig. 10 u. 11). Etwas vor der Mitte der Zelle befindet sich der bläschenförmige Kern, dessen feinerer Bau im einzelnen unten geschildert werden wird. In den becherförmigen Chromatophoren liegen bei dem Klon unserer Zählkultur (Fig. 23—26) stets mehrere Pyrenoide. Bei einem Material, das im Mai 1920 aus dem Hundekehlensee gefischt war, fand sich dagegen stets nur ein einziges Pyrenoid (Fig. 10—21). Leider waren die Kulturen von diesem Material nur einige Monate weitergeführt und dann, da sich in ihrer Morphologie und Physiologie kein Unterschied gegenüber dem alten Klon erwies, aufgegeben worden. Da die cytologische Untersuchung dieses Materials aber erst später ausgeführt wurde, so konnte nicht mehr festgestellt werden, ob nicht eventuell in der Kultur nachträglich eine Vermehrung der Pyrenoide eintrat oder ob es sich von vornherein um zwei konstante Typen handelt, die sich etwa analog wie *Chlorogonium elongatum* und *euchlorum* durch verschiedene Zahl der Pyrenoide unterscheiden. Andere Verschiedenheiten morphologischer oder physiologischer Art konnten gegenüber den anderen Stämmen nicht festgestellt werden. Doch zeigte die cytologische Untersuchung älterer Proben von Eudorinen verschiedener Herkunft sowie eines inzwischen aufgefundenen neuen Stammes, daß auch in der freien Natur Stämme mit mehreren Pyrenoiden vorkommen (in der Umgebung von Berlin sogar vorwiegend solche). Da aber inzwischen kein Stamm mit einem Pyrenoid wieder aufgefunden wurde, so kann die Frage, ob hier nur eine Modifikation derselben Rasse oder ob zwei verschiedene Rassen vorliegen, zurzeit noch nicht aufgeklärt werden.

Die Teilung setzt bei den in dem folgenden Kapitel näher beschriebenen Kulturbedingungen in der Regel in der 5., ausnahmsweise schon in der 4. oder erst in der 6. Nacht ein. Bei Tage vollzieht sich niemals eine Teilung. Wie schon GOROSCHANKIN und GÖBEL beschrieben haben, teilen sich alle Zellen ziemlich gleichzeitig. Je besser und gleichmäßiger die Kultur, um so gleichmäßiger auch die Teilung. Nur die 4 Zellen des vorderen Poles haben, wie schon oben bemerkt, und wie auch die Abbildung von GÖBEL zeigt, die Neigung, mit der Teilung etwas nachzuhinken. Bei geringen Störungen in dem Verhältnis der Außenbedingungen

tritt an diesen 4 ersten Zellen die Teilungshemmung immer am häufigsten zutage. Da bei der verwandten *Pleodorina illionensis* diese 4 Zellen des vorderen Poles die Fortpflanzungsfähigkeit überhaupt eingebüßt haben, und reine Somazellen geworden sind, so kann man in der erhöhten Hinneigung dieser 4 vorderen Zellen zur Teilungshemmung bei *Eudorina* schon einen ersten Anfang zu der Differenzierung von Somazellen erblicken.

Die Zellteilungsvorgänge und die Entwicklung der Kolonie haben schon GOROSCHANKIN und GÖBEL sehr gründlich geschildert, so daß deren Angaben nichts wesentlich Neues hinzuzufügen ist. Durch eine Reihe von Zellteilungen, über deren Verlauf und Richtung die verschiedenen Hand- und Lehrbücher (z. B. BÜTSCHLI, 1883—87 u. OLTMANN'S 1904 nach den Angaben von GOROSCHANKIN und GÖBEL) Aufschluß geben (s. auch Fig. 5), entsteht zunächst mehr oder minder in einer Ebene eine Scheibe von 32 Zellen. Während dieser Teilungen krümmt sich jedoch schon die entstehende Zellplatte zunächst becher-, schließlich krugförmig immer mehr, so daß eine Hohlkugel mit kleiner Öffnung zustande kommt, die zum Schluß auch noch durch Gallerte und Zusammenrücken der Zellen geschlossen wird. Über eine merkwürdige, bisher nicht beschriebene Umdrehung der einzelnen Zellbestandteile resp. Zellen während der Bildung dieser kugeligen Tochterkolonie wird bei der unten folgenden Schilderung der feineren Zellvorgänge während der Teilung noch zurückgekommen werden.

Am folgenden Morgen sind die Teilungen vollendet und die Tochterkolonien ausgebildet. Sie liegen aber noch zunächst innerhalb der stark gequollenen Zellmembran der Elternzelle. Auch die ganze Elternkolonie ist noch einheitlich, aber stark gequollen (Fig. 2). Die jungen Tochterkolonien bewegen sich nun kreisend innerhalb der gequollenen Membran der Elternzelle, bis letztere platzt und die Tochterkolonien nun in die Gallerte geraten. Schließlich reißt oder verquillt auch letztere; die jungen Kolonien schwimmen nun frei im Wasser davon (Fig. 6) und wachsen in derselben Weise wieder innerhalb der nächsten 4—5 Tage heran.

Bei der Beschreibung der feineren cytologischen Vorgänge während der Teilung beginnen wir mit dem Kern. Derselbe erscheint in der erwachsenen vegetativen Form als ein Bläschen von ca. 6—7  $\mu$ ; gegen das Plasma ist er durch eine sehr feine Membran abgegrenzt. Im Innern befindet sich ein großer, stark gefärbter Binnenkörper in einem bei den verschiedensten Färbemethoden



farblos bleibenden feinen Wabenwerk (Fig. 10, 11, 22—26). Seitlich von dem Binnenkörper trifft man in den meisten Kernen noch ein deutliches dunkel gefärbtes Korn, das, wie sein weiteres Verhalten bei der Teilung zeigt, als Centriol anzusprechen ist (Fig. 10, 11, 25, 26).

Der Verlauf der Kernteilung stimmt im Prinzip völlig mit dem überein, der in der ersten Mitteilung für *Chlorogonium elongatum* eingehend beschrieben wurde. Zunächst setzt im Außenkern die Bildung von Chromosomen ein, indem eine Art Spirem auftritt (Fig. 12). Es ist nicht festzustellen, ob es sich zunächst um einen einheitlichen Spiremfaden handelt, oder ob von vornherein mehrere getrennte chromosomenartige Fäden vorhanden sind. Jedenfalls sind später deutlich getrennte Schleifen zu beobachten, deren Zahl zunächst eine größere ist als die der fertigen Chromosomen (Fig. 12 a, 13). Die Schleifen kondensieren sich hierauf, und verschmelzen in der Metaphase zu den fertigen Chromosomen, deren Zahl 10 beträgt (Fig. 12—14). Die Chromosomenzahl ist also dieselbe, wie sie für *Chlorogonium* (DANGEARD und HARTMANN), *Chlamydomonas* (PASCHER) und *Polytomella* (DOFLEIN) neuerdings angegeben wurde. DOFLEIN nimmt allerdings in seiner ausführlichen Arbeit nur 5 Chromosomen an und glaubt, daß die Zahl 10 in den Prophasen nur auf frühzeitige Teilung zurückzuführen sei. Ein Beweis für diese Anschauung scheint mir aber keineswegs erbracht, da DOFLEIN in seiner Arbeit nur Prophasen und Seitenansichten von Spindeln gegeben hat, keine Polansichten, sicher keine von Anaphasen. Bei *Chlorogonium* und *Eudorina* beträgt in den Pro- Meta- und Anaphasen die Zahl der Chromosomen mit Sicherheit 10. Die genaue Zahl der Chromosomen kann natürlich auch bei *Eudorina* ebenso wie bei *Chlorogonium* nur in Polansicht mit Sicherheit festgestellt werden, da die Chromosomen in einer Platte angeordnet sind. Fig. 18 a zeigt sie ungeteilt (10) in der Metaphase, Fig. 18 b bereits in der Anaphase geteilt (20). Eine Koppelung von 2 Chromosomen wie bei *Polytoma* (ENTZ), *Polytomella* (DOFLEIN) und *Chlorogonium* (HARTMANN) fehlt bei *Eudorina*.

Noch ehe die Chromosomen in ihrer definitiven Zahl ausgebildet sind, entsteht auch die intranucleäre Spindel. Schon oben wurde erwähnt, daß im Ruhekern stets deutlich das Centriol als kleines dunkles Korn neben dem Binnenkörper zu beobachten ist. Bei *Chlorogonium elongatum* hatte ich dasselbe seinerzeit nicht nachweisen können, aber darauf hingewiesen, daß DANGEARD in einem Falle

bei *Chlorogonium euchlorum* ein Centriol abgebildet habe, jedoch über seine Bedeutung unsicher war. Inzwischen haben wir Gelegenheit gehabt, auch *Chlorogonium euchlorum* zu untersuchen und dabei das Vorhandensein von Centren im Ruhekern entsprechend der Abbildung von DANGEARD feststellen können. In einem neu gezüchteten Stamme von *Chlorogonium elongatum* war es ebenfalls mit aller Deutlichkeit fast in jedem Kerne zu beobachten. Bei *Eudorina* ist dies noch viel deutlicher, und seine Natur kann hier in keiner Weise in Zweifel gezogen werden. In den Prophasen teilt es sich nämlich hantelförmig (Fig. 12a) und bildet dann direkt die Zentralspindel (Fig. 13). Die negativen Befunde DOFLEIN'S bei *Polytomella*, *Polytoma* und *Volvox* können besonders auch im Hinblick auf unsere Erfahrungen an verschiedenen Klonen von *Chlorogonium elongatum* natürlich in keiner Weise gegenüber diesen eindeutigen positiven Befunden ins Feld geführt werden. Es liegt daher auch kein Grund vor, auf die ausführliche *Polytomella*-Arbeit DOFLEIN'S hin unseren in der I. Mitteilung ausführlicher begründeten Standpunkt in der Centrenfrage bei den Phytomonadinen in irgendeiner Weise zu ändern.

Die Zentralspindel entsteht also bei *Eudorina* in anderer Weise als bei *Chlorogonium*, wenigstens bei der ersten Kernteilung. Dagegen scheint, wie Fig. 19 zeigt, bei der zweiten Kernteilung ganz wie bei *Chlorogonium* zuerst eine Halbspindel aufzutreten, die sich zwischen Centriol und Chromosomen ausbildet. Die Vollspindel wird denn wohl auch hier, in der Weise wie bei *Chlorogonium*, nach Teilung des Centriols und Bildung einer zweiten Halbspindel durch Herumwandern der einen Halbspindel der Kernmembran entlang zustande kommen. Danach ist es vielleicht nicht unwahrscheinlich, daß der verschiedene Bildungsmodus der Spindel von der Lage des Centriols und dem zeitlichen Auftreten der Chromosomen abhängig ist. Liegt es ganz im Innern wie bei den meisten Protozoen und bei der ersten Kernteilung von *Eudorina*, so entsteht in den Prophasen durch seine Polarität direkt eine Ganzspindel. Liegt es dagegen an der Kernmembran und gelangen die Chromosomen schon vor seiner Teilung zur Ausbildung, so entsteht erst eine Halbspindel, die sich hierauf verdoppelt und durch die Gegenüberstellung der beiden Halbspindelhälften zur Ganzspindel wird. So ist es bei *Chlorogonium elongatum* und *euchlorum* (HARTMANN 1918), den Askomyceten (HARPER und GUILLERMOND), Phäophyceen (SWINGLE) und Gregarinen (SCHELLACK u. a.) und so scheint es auch bei der 2. Kernteilung von *Eudorina* zu sein.

Die Anaphasen und Telophasen der Kernteilung (Fig. 15—17) scheinen sich ganz in der Weise zu vollziehen, wie es für *Chlorogonium elongatum* eingehend geschildert worden ist. Nur ist bei *Eudorina* das Centriol in den Telophasen in einer am vorderen Kernpol ausgezogenen Zuspitzung der Kernmembran äußerst deutlich erkennbar (Fig. 15—17), während es bei *Chlorogonium* in diesem Stadium nicht beobachtet wurde.

Die alten Geißeln bleiben zwar bei der Fortpflanzung lange Zeit erhalten, lösen sich aber während der Zellteilungsvorgänge von den Protoplasten völlig los und hängen nur an der Zellmembran fest, bis sie schließlich zugrunde gehen. Gleichzeitig mit der Lösung der Geißeln von dem Protoplastkörper werden während der Prophasen der Kernteilung auch die Basalkörper und Rhizoplasten völlig resorbiert. Bei *Chlorogonium* konnte nun die Neubildung der Geißeln vom Kern aus nur durch die merkwürdige Wanderung der Kerne zum vorderen Zellpol und die Rückkehr nach der Zellmitte erschlossen resp. vermutet werden. Bei *Eudorina* dagegen läßt sich die Neubildung vom Kern resp. Centriol aus deutlich beobachten. Nach der letzten Kernteilung liegt der Kern mit seinem zugespitzten Ende (Centriol) dem vorderen Zellpol dicht an. Kurz darauf zieht er sich ins Zellinnere zurück, hat jedoch am Zellpol ein färbbares Doppelkorn (Basalkörper) zurückgelassen, von dem die Geißeln ausgewachsen (Fig. 21); offenbar hat sich also das Centriol geteilt.

Der Chromatophor wird bei der Zellteilung, die hier besonders bei den ersten Teilungen als deutliche Längsteilung sich erweist, einfach halbiert. Bei dem Material aus dem Hundekehlensee, das durch ein Pyrenoid ausgezeichnet ist, ist die Teilung des Chromatophoren stets mit einer Teilung des Pyrenoids verbunden, die gewöhnlich schon auf den Prophasen beginnt (Fig. 12, 17, 19). Der Klon, der zu unseren Versuchen gedient hat (und ebenso alle übrigen untersuchten Stämme), ist, wie oben erwähnt, durch eine größere Zahl von Pyrenoiden ausgezeichnet. Bei der Fortpflanzung werden dieselben auf die Tochterzellen mitverteilt, von denen zum Schluß jede ebenfalls nur ein einziges Pyrenoid enthält (Fig. 22, 29). Während des Wachstums der Zelle tritt dann eine Vermehrung der Pyrenoide ein (Fig. 23—25), offenbar bis die Zahl 32 erreicht ist.

Alle jungen Tochterzellen sind bei und kurz nach den Teilungen so orientiert, daß der Kern an dem nach innen (der kugeligen Kolonie) gerichteten Pol, Chromatophor mit Pyrenoid dagegen am äußeren Pol liegt. Ehe nun die Geißeln zur Ausbildung gelangen, erfolgt eine Um-

kehr der Zellen oder Zellteile, so daß bei der fertig ausgebildeten Tochterkolonie Kern und Geißel nach außen, Chromatophoren und Pyrenoid nach innen orientiert sind (Fig. 21 u. 22). Bisher konnte noch nicht ermittelt werden, ob die Umkehr in der Polarität der Zellen durch Umdrehung der ganzen Zellen oder durch Verlagerung der Zellteile speziell Wandern der Kerne zustande kommt. Dieselbe Umkehr fanden wir auch bei jungen *Volvox*-Kolonien und aus den Abbildungen von Mæstron ergibt sich, daß das auch für *Pleodorina illionensis* gilt. Merkwürdigerweise findet sich dieser auffallende Vorgang bisher nirgends in der Literatur erwähnt.

## 2. Die äußeren Bedingungen der agamen Kultur von *Eudorina elegans*.

### a) Die normalen Kulturbedingungen.

Mit Ausnahme von der Gattung *Volvox* ist *Eudorina elegans* von allen bisher von mir untersuchten Volvocineen die am schwersten zu kultivierende Form. Die Kulturversuche wurden im Mai 1915 begonnen, als aus einem Tümpel bei Dahlem und einem Weiher in Frohnau reichliches Material aus der freien Natur zur Verfügung stand. Die ersten Wochen schlugen alle Versuche, die Form in dem für Algen üblichen Nährlösungen am Nordfenster weiterzuzüchten, fehl. Dabei war es gleichgültig, ob ich die Kultur in kleinen oder größeren Gefäßen mit einem einzigen gründlich gewaschenen Individuum oder mehreren ansetzte, oder ob nur in Rohkulturen eine einfache Anreicherung erstrebt wurde. Wohl vollzog sich anfangs eine geringe Vermehrung — in Massenkulturen war sie natürlicherweise recht auffallend — aber nach 1—2 Teilungsschritten degenerierten die Eudorinen und verschwanden ziemlich rasch. Sehr bald war zu erkennen, daß andere Microorganismen, vor allem kleine Protozoococcideen, Chlamydomonaden und Rotatorien unter den angewandten Bedingungen sehr gut gedeihen und sehr rasch die Überhand gewannen; es lag nahe, daran zu denken, daß die Anwesenheit derartiger Begleitorganismen einen schädigenden Einfluß auf die Eudorinen ausübte, was sich auch später tatsächlich experimentell feststellen ließ. Die Rotatorien schädigen die *Eudorina*-Kulturen nicht nur durch Fressen der einzelnen Kolonien, sondern üben auch durch ihre bloße Anwesenheit in den Kulturgefäßen einen äußerst schädlichen, ja direkt vergiftenden Einfluß auf die Eudorinen aus. Das

letztere gilt auch von gewissen Protococcoideen. Daher wurde von Anfang an bei den Kulturversuchen auf möglichste Reinheit des Ausgangsmateriales Wert gelegt und vorwiegend mit isolierten Kolonien, die mehrmals zuvor in steriler Nährlösung gewaschen waren, Kulturversuche angestellt. Da meistens an der Gallerte der Kolonien andere Organismen ankleben, so ist es in der Regel nicht möglich, von Anfang an die Kulturen frei von größeren Begleitorganismen (Protococcoideen usw.) zu bekommen; doch gelingt dies nach mehrmaliger Übertragung und gründlicher Waschung fast immer. Dagegen sind Bakterien und kleinste Flagellaten (Prowazekien) kaum ganz auszuschalten. Dieselben schädigen allerdings meist gar nicht und bleiben in der Nährlösung in ihrer Entwicklung auch immer beschränkt.

In anderen Versuchen hatte es sich schon gezeigt, daß das käufliche destillierte Wasser meist giftig wirkt, offenbar weil es in Metallgefäßen destilliert wird; deshalb wurde zur Herstellung von Nährlösungen nur destilliertes Wasser benutzt, das im FEMEL-Destillierapparat, der ganz aus Jenenser Glas besteht, selbst hergestellt wurde.

Aber selbst unter diesen Vorsichtsmaßregeln gelang die Kultur zunächst nicht. Erst nach wochenlangen vergeblichen Versuchen mit Nährlösungen von verschiedener Zusammensetzung wie KNOP, MOLICH, BEYRINK usw. und verschiedener Konzentration stellte sich heraus, daß die Konzentration der Nährlösung neben der Reinheit des Ausgangsmaterials eine der wesentlichsten Bedingungen für das Gelingen der Kultur von *Eudorina* ausmacht. Die bisher in der botanischen Literatur gebräuchlichen Konzentrationen der Nährlösungen erwiesen sich als zu stark salzhaltig und übten erhebliche Schädigungen auf die Eudorinen aus. So verursachte eine KNOP-Lösung von 0,1 Proz. schon erhebliche Degenerationen und nach 1—2 Generationen starben die Kulturen ab. Nach planmäßigen Untersuchungen erwies sich eine KNOP'sche Lösung von 0,05 Proz. Salzgehalt als günstig für eine normale Weiterzucht. Unter den oben erwähnten Voraussetzungen, reines Ausgangsmaterial und eigens hergestelltes destilliertes Wasser, gelang die Kultur in einer solchen Lösung dann sehr gut. Außer der Konzentration der Nährlösung spielt hier wohl auch eine „Gewöhnung“ an die Nährlösung eine gewisse Rolle (s. unten).

Von dem reichlichen Ausgangsmaterial war inzwischen das Frohnauer Material ganz eingegangen, von dem Dahlemer, in dem

von Anfang an eine starke Neigung zu geschlechtlicher Fortpflanzung bestand, waren nur noch 8–10 Kolonien übrig. Erst bei den letzten 8 Kolonien war die richtige Konzentration der Nährlösung aufgefunden worden und damit die Möglichkeit der Weiterzucht gegeben. Zunächst wurden alle diese Individuallinien oder Klone nebeneinander weitergeführt; da sie sich aber in allen ihren untersuchten Eigenschaften, wie Morphologie, Teilungsrate, Verhalten unter verschiedenen Außenbedingungen als gleich erwiesen, wurden zunächst noch 2, später nur 1 Linie weitergezüchtet, so daß alle weiteren Versuche und die ganzen Zählkulturen sich auf diese eine Linie beziehen. In späteren Jahren wurden noch mehrmals Linien aus der freien Natur gezüchtet; da auch bei ihnen bis auf den oben erwähnten Stamm aus dem Hundekehlensee, bei dem nur 1 Pyrenoid beobachtet worden war, kein Unterschied nachzuweisen war, wurde auch ihre Kultur nicht weitergeführt.

Für das Hauptproblem, das in dieser Arbeit behandelt wird, die Frage nach der Möglichkeit einer dauernden agamen Fortpflanzung, ist es von der größten Wichtigkeit, daß unter den oben erwähnten Bedingungen die geschlechtliche Fortpflanzung von *Eudorina* völlig unterdrückt wird. Wie schon mitgeteilt, befand sich gerade das Ausgangsmaterial, von dem der verwendete Klon stammte, in sexueller Stimmung, da reichlich geschlechtliche Fortpflanzung stattfand. Durch Kultur in Knop'scher Nährlösung von 0,05 Proz. wurde nun die Neigung zur sexuellen Fortpflanzung hintangehalten, und schließlich ganz unterdrückt. Ja schon nach kurzer Zeit hatte die Kultur unter den erwähnten Bedingungen sogar die Möglichkeit zur sexuellen Fortpflanzung bei den früheren Bedingungen verloren. Denn als nun nach gelungener Kultur versucht wurde, die Sexualität wieder auszulösen, indem die Eudorinen in dasselbe filtrierte Wasser überführt wurden, in dem sie vorher sich vorwiegend geschlechtlich fortpflanzten, trat die Sexualität nicht mehr ein. Auch konnte sie in allen weiteren, immer und immer wiederholten und vielfach variierten Versuchen nicht wieder weder bei diesem Klon noch bei anderen später gezüchteten ausgelöst werden. So unangenehm dieses Verhalten für unsere anderen geplanten Versuche war, so wertvoll ist es für das hier behandelte Problem. Denn die oben angegebene Art der Züchtung bietet dadurch eine völlig sichere Methode, die Befruchtung resp. geschlechtliche Fortpflanzung auszuschalten.

Eine gewisse Schwierigkeit bot zeitweise, besonders in den Wintermonaten, die sichere Weiterführung der Zählkulturen durch

die Empfindlichkeit der Eudorinen gegen Veränderung der Außenbedingungen. Die richtige Konzentration der Nährlösung war, nachdem einmal erkannt, natürlich leicht dauernd zu beschaffen. Auch das Reinhalten der Kulturen von Algen und Protozoen machte keine erheblichen Schwierigkeiten, da es sich durch mehrmaliges Waschen der Eudorinen mit steriler Nährlösung beim Überimpfen in der Regel vermeiden ließ. Doch traten trotz dieser Vorsicht gelegentlich Verunreinigungen mit Protococcoideen auf, die oft recht schädigend wirkten und meist Depressionen und überstürzte Teilungen hervorriefen, über die unten noch berichtet werden soll. Da es zudem anfangs nicht gelang, die Eudorinen dauernd bei konstanter künstlicher Lichtquelle zu züchten, so war in den Wintermonaten die Teilungsrate, die im Hochsommer bei klarem Wetter am Nordfenster 4—6 Tage betrug, oft auf 20 Tage und mehr verlängert, und in dieser langen Zeit konnten auch die Bakterien, die, wie schon erwähnt, bei *Eudorina* nie ganz zu vermeiden sind, sich unter Umständen stärker entwickeln, und Schädigungen, Depressionen und Degenerationen hervorrufen. Um daher durch eine solche nicht sicher ausschließbare Verunreinigung die Fortführungen der Zählkulturen ohne Depressionen nicht zu gefährden, wurden stets mehrere Parallelkulturen und zwar in der Regel 4, in besonders gefährlichen Zeiten, wie im Winter und bei einigen noch zu schildernden Gelegenheiten 5—10 und noch mehr geführt. Auf diese Weise gelang es, auch bei Auftreten von Depressionen, die durch Entstehung von unregelmäßigen Kolonien und überstürzten Teilungen sichtbar werden, die Zählkultur sicher durch die ganzen Jahre hindurch ohne Depression weiterzuführen. Der Vergleich mit den normal gebliebenen, parallel geführten Schwesterkulturen lehrte zugleich, daß die Depressionen nur auf schädliche Außeneinflüsse zurückzuführen sind, und die letzteren konnten direkt in einer stärkeren Bakterienentwicklung oder in der Verunreinigung mit einer Protococcoidee erkannt werden.

Manchmal konnte in den ersten Monaten der Kultur eine derart sichtbare Ursache für die Depression nicht beobachtet werden; in diesen Fällen ließ sich dann aber zeigen, daß sie offenbar durch am Glas unsichtbar haftende, durch Waschen und Reinigen nicht genügend entfernte Stoffe bedingt sein mußten. Denn durch Benutzung frischer oder in destilliertem Wasser ausgekochter Gläser ließen sich auch in diesen Fällen die Depressionen völlig beseitigen. Nachdem auch dies erkannt war, wurden weiterhin nur noch gründlich gewaschene und nochmals ausgekochte Gläser benutzt. Hätte man in all diesen

Fällen, Verunreinigungen durch andere Mikroorganismen und ungenügende Reinigung der Gläser nicht zahlreiche Parallelkulturen geführt, so hätten die schädlichen Außenbedingungen leicht unbekannt bleiben können und man wäre dann ohne weiteres auf den Gedanken gekommen, daß die Depressionen aus inneren Gründen aufgetreten seien.

Im Frühsommer 1918 machte sich nun noch eine andere, zunächst unbekante, Schädigung sehr unliebsam bemerkbar, die dazu nötigte, große Parallelserien anzulegen, um die normale Zählkultur durchhalten zu können. Alle angewandten Maßregeln, wie die peinlichste Sauberkeit, gründliches Waschen der Eudorinen und Gläser, Verwendung von neu und sorgfältig hergestellter Nährlösung, vermochten zunächst nicht die Depressionen auszuschalten und ich begann schon zu glauben, daß eventuell doch eine innere Erschöpfung der Kulturen die Ursache sei. Schließlich versuchte ich, ob nicht etwa die nun seit ca. 2 $\frac{1}{2}$  Jahren verwendeten Gläser trotz des sorgfältigen Auskochens schlecht seien und kultivierte in neu beschafften Behältern teils aus Glas teils aus Quarz. Der Erfolg war überraschend: in allen neuen Gefäßen, auch denen aus Glas, prachtvolle normale Kulturen, in den alten Gläsern überwiegend Depressionen. Nach dieser Erfahrung wurde später, im Frühjahr 1920, nochmals ein Wechsel der Gläser vorgenommen, als sich wiederum geringe Anzeichen von Depressionen ohne sonstige äußere erkennbare Ursachen zeigten. Der Erfolg war der gleiche. Es hat sich also gezeigt, daß durch die fortgesetzte Verwendung derselben Gläser für die *Eudorina*-Kulturen nach 2—3 Jahren offenbar Änderungen am Glas oder Niederschläge auftreten, die durch gewöhnliches Reinigen und Kochen nicht mehr entfernt werden können, und daß somit nach einer solchen Zeit neue Gläser verwendet werden müssen.

Diese Erfahrungen bei der Kultur der so empfindlichen Eudorinen sind äußerst lehrreich für das in dieser Arbeit behandelte Problem des Alterns agamer Generationen bei Ausschalten der Befruchtung. Hätte ein Untersucher im Sommer 1918 sich mit den erst erwähnten Maßregeln, die Depressionen hintanzuhalten (Auskochen der Gläser und die üblichen sonstigen Vorsichtsmaßregeln), begnügt und keine völlig neuen Gläser verwendet, so wäre er fraglos zu dem Schlusse gekommen, daß in den agamen *Eudorina*-Kulturen nach ca. 650 Generationen aus inneren Gründen Depressionen auf-

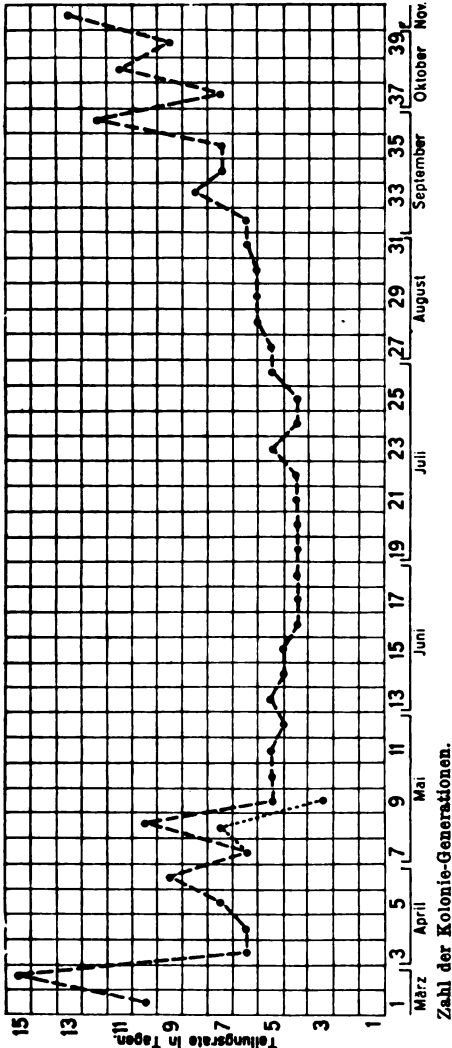


treten, die schließlich in schwere Degenerationen und Tod übergehen, mit anderen Worten, daß die Verhinderung der Befruchtung ein Altern der Generationen erzeuge. Aus den oben mitgeteilten Erfahrungen ergibt sich aber, wie vorsichtig man mit derlei Folgerungen und Behauptungen sein muß, solange man nicht die Außenbedingungen gründlich kennt und zu beherrschen vermag.

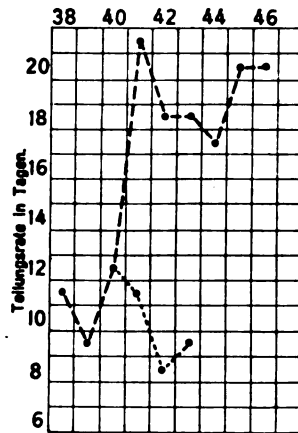
In der früheren Veröffentlichung wurde mitgeteilt, daß es nicht gelungen war, die Eudorinen bei einer konstanten künstlichen Lichtquelle dauernd ohne Schädigungen zu züchten. Von den Außenbedingungen war daher eine der wichtigsten, die Beleuchtung, außerordentlichen Schwankungen unterlegen und dies bedingte auch bei sonst ganz normalen Verhältnissen, besonders in gewissen Jahreszeiten, recht erhebliche Schwankungen der Teilungsrate. Bei Infusorien (*Paramecium*) sind aber, wie WOODRUFF und ERDMANN gezeigt haben, die in den Zählkulturen auch zeitweise auftretenden Veränderungen (Verlangsamung) im Teilungsrhythmus mit parthenogenetischen Zellregulationen verknüpft, und so könnte der Einwand erhoben werden, daß auch bei den *Eudorina*-Kulturen etwas Derartiges mit den erheblichen Verlängerungen der Teilungsrate verbunden sein könne. Dieser Einwand hat sich nun schon früher durch den Nachweis entkräften lassen, daß die Schwankungen der Teilungsrate hier allein durch langsames Wachstum infolge geringerer Beleuchtung bedingt sind. Wie die Zuchtlisten S. 253 ff. und besonders deutlich die Kurven, Textfig. B, C u. D zeigen, sind bei *Eudorina* die Schwankungen der Teilungsrate ganz von der Jahreszeit abhängig. Während sie in den Sommermonaten, so z. B. besonders schön im Sommer 1916 von Mitte Mai bis Mitte September, sehr regelmäßig ist und sich zwischen 4 und 6 Tagen bewegt, ja im Juni und Juli 1916 wochenlang genau auf 4 Tagen stehen blieb, ist sie im Frühjahr, Herbst und Winter erheblichen Schwankungen ausgesetzt, so daß der Unterschied plötzlich von einer Generation zur anderen 5—10 Tage beträgt (s. Textfig. B). Vergleichende Beobachtungen und Versuche hatten schon früher ergeben, daß das ausschließlich von der Dauer und Intensität der Beleuchtung abhängt. So trat z. B. im August und Oktober 1915 plötzlich kaltes und vor allem sehr trübes Wetter ein, wodurch im Oktober 1915 die Teilungsrate (Generation A 21, 7.—21. Okt.) von 7 auf 14 Tage verlängert wurde, um bei der nächsten Generation wieder auf 8 Tage zurückzugehen. Im Winter sank dann die Teilungsrate am Nordfenster bis auf 24 Tage, am Südostfenster bis auf 20—21. Genau dieselben Er-

fahrungen wurden in den darauffolgenden Jahren 1916/17 und 1918/19 und 1919/20 gemacht.

Um auch diesen wichtigen Außenfaktor konstant zu gestalten war es natürlich mein Bestreben, von den äußeren Beleuchtungsverhältnissen möglichst unabhängig zu werden und die Eudorinen bei einer konstanten künstlichen Lichtquelle zu züchten. Zu diesem Zwecke wurden eine Reihe Versuche mit künstlichen Lichtquellen im Dunkelzimmer unternommen, doch in den ersten Jahren gelang, wie schon



Zahl der Kolonie-Generationen.



Textfig. C.

(Zuchtsérie B). Verhältnis von Normalkultur (---) zur abgesweigten Kultur in künstlichem Licht (...), 100 Watt-Nitralampe.

früher mitgeteilt, keine dauernde Zucht ohne Schädigungen, wenn auch für kürzere Zeit (einige Wochen) die Lichtkulturen ziemlich gleichmäßige Resultate ergaben. So zeigt die Textfig. C nochmals einen derartigen älteren Versuch vom Herbst 1916 mit einer Nitra-

lampe von 100-Watt; die Lichtkultur wurde von der Tageskultur B 40 (Teilungsdauer 12 Tage) abgezweigt. Während bei Generation 41 die Teilungsrate auf 21 Tage stieg und dann weiterhin bei Überführung an das Südostfenster zwischen 17 und 20 verblieb, sank sie bei der entsprechenden Lichtkultur zunächst auf 11, dann für die weiteren Generationen auf 8—9 Tage. Daß die Teilung nicht sofort auf 8—9 Tage sank, ist verständlich, da ja beim Überführen die jungen, noch nicht isolierten Kolonien noch einige Zeit unter den alten Ausgangsbedingungen gestanden haben. Bei einer stärkeren Beleuchtung mit einer 200-Watt-Lampe in einem anderen Versuch war die Teilungsrate noch kürzer, etwa 6—7 Tage. Leider ließ sich diese Versuchsanordnung mit künstlichem Licht aber nur 3—4 Generationen, nicht auf die Dauer durchführen, da nach wenigen Generationen schwere Schädigungen eintraten.

Schon diese Versuche hatten gezeigt, daß wie bei einem autotrophen Organismus nicht anders zu erwarten, die Teilungsrate bei gleichen Bedingungen völlig von der Intensität und Dauer der Beleuchtung abhängig ist. Wenn es nun auch zunächst dabei noch nicht gelungen war, *Eudorina* dauernd bei künstlichem Licht zu kultivieren, so wurde doch bei der großen Bedeutung, die gerade eine konstante Lichtquelle für die gleichmäßige Kultur besitzt, immer wieder in den folgenden Jahren versucht, die schädigenden Ursachen zu ermitteln, die bei einer Kultur bei künstlichem Licht sich nach einiger Zeit einstellten. Nach vielen vergeblichen Versuchen, die Jahr für Jahr wiederholt wurden, gelang es schließlich im November 1919, Bedingungen herzustellen, unter denen die Kultur in künstlichem Licht mit aller nur wünschenswerten Gleichmäßigkeit und Gesundheit dauernd möglich ist. Zunächst war schon früher festgestellt worden, daß eine nur 12stündige tägliche künstliche Beleuchtung der Kulturen günstiger wirkte, als wenn man die Lichtquelle ununterbrochen Tag und Nacht einwirken ließ. Die Depressionen und Degenerationen traten im ersteren Falle später ein. Ein zweiter Faktor, der die Kultivierung im künstlichen Licht günstiger gestaltete, war die Anbringung einer Kühlung zwischen Lampe und Kulturgefäß, zunächst mit stehendem, später mit fließendem Wasser, in einer parallelwandigen Kuvette. Nach dem Vorgange von Herrn Kollegen WARBURG wurde die Kühlung von 1918 an in der Weise verbessert, daß durch ein größeres Glasgefäß das fließende Wasser geleitet, während in einem inneren Glashafen die Lampe montiert wurde (s. Beschreibung unten). Bei dieser Anordnung ließ sich die Temperatur weit gleichmäßiger erhalten. Sie schwankt Winter wie

Sommer auf dem Kulturgestell zwischen 18 und 24°. Der Durchschnitt beträgt ziemlich gleichmäßig ca. 21°.

Aber alle diese Verbesserungen gewährten noch keinen dauernden Erfolg. Anlässlich anderer Versuche an *Eudorina* und anderen Volvocineen hatte sich nun herausgestellt, daß unter sonst gleichen Außenbedingungen die Kulturen gleichmäßiger und besser gediehen, wenn statt KNOP'scher Lösung eine von BENNECKE für Spirogyren angegebene Nährlösung in derselben Konzentration benutzt wurde. Dieselbe unterscheidet sich von der KNOP-Lösung hauptsächlich dadurch, daß sie als Stickstoffquelle Ammoniumnitrat und statt Monokaliumphosphat Dikaliumphosphat enthält. Es ist schwer zu entscheiden, welchem dieser beiden Stoffe die günstigere Wirkung zuzuschreiben ist, resp., warum die schädigende Wirkung der anderen Lösung nur bei künstlicher Beleuchtung in Kraft tritt.<sup>1)</sup> Für unser Problem ist aber diese Frage zunächst belanglos. Für dies genügt das Resultat, daß unter diesen Bedingungen, also mit BENNECKE-Lösung statt KNOP-Lösung, eine äußerst günstige Kultur von *Eudorina* bei künstlichem Licht mit gleichmäßiger Teilungsrate dauernd gelang. Als künstliche Lichtquelle wurde in Zukunft eine 300-Watt-AEG-Nitralampe oder Azo-Lampe benutzt. Die Teilungsrate beträgt bei dieser ca. 5 Tage. Lampen von geringerer oder größerer Lichtstärke erwiesen sich für unsere Versuche als weniger günstig. Die hier eingefügte Tabelle gibt nebeneinander den Verlauf der bei Generation B 164 abgezweigten Lichtkulturen (links) und der alten Tageslichtkultur am Nordfenster (rechts).

Die Tabelle (S. 242) zeigt noch eindringlicher als die oben mitgeteilten Versuche einerseits die Abhängigkeit der Teilungsrate vom Licht und andererseits die außerordentliche Gleichförmigkeit der Teilungsrate und des Kulturverlaufes bei der künstlichen Beleuchtung.

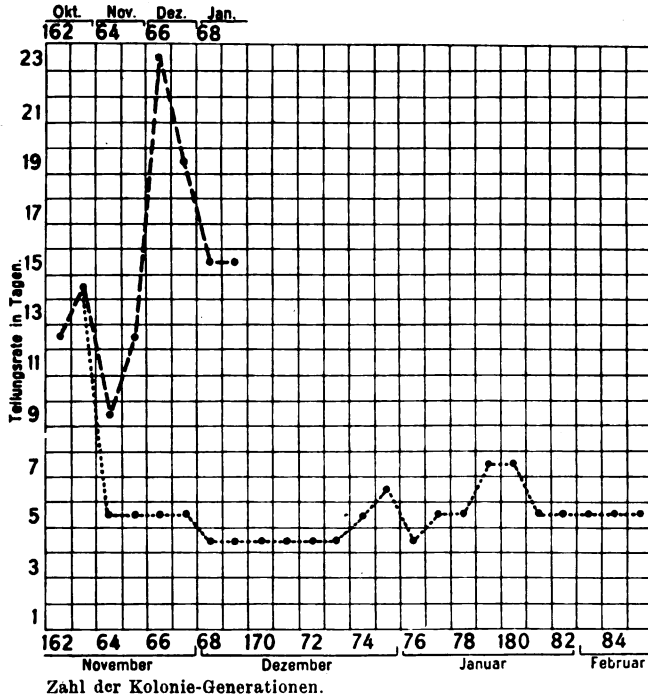
<sup>1)</sup> Sehr auffallend ist die Erscheinung, daß, nachdem die Kultur bei Licht in Lösung nach BENNECKE von 0,05 längere Zeit völlig normal und gut weitergeführt wurde, *Eudorina* nun auch in 0,05 Proz. KNOP-Lösung und in MOLICH-Lösung bei Licht kultiviert werden konnte. Beim Überführen in 0,05 Knoplösung im Sommer 1920 zeigte sich bei der ersten und zweiten Teilung eine Verzögerung der Teilung, und ging dann normal weiter. In MOLICH-Lösung traten bei der ersten Generation schwere Anomalien auf, wie das Auftreten von *Gonium*-artigen, tafelförmigen Kolonien. Dieselben bildeten sich aber im gleichen Kulturgefäß ohne Erneuerung der Lösung bei der nächsten Teilung wieder zurück und gingen dann ebenfalls normal weiter. Auf diese „Gewöhnungen“ soll in der folgenden IV. Mitteilung noch näher eingegangen werden. Ähnliche Erfahrungen über „Gewöhnungen“ wurden auch bei der Heranzucht neuer Klone aus der freien Natur gemacht.

| Konstantes Licht, Nitalampe |                                |                             |                        | Tageslicht Nordfenster |                                |                             |                           |
|-----------------------------|--------------------------------|-----------------------------|------------------------|------------------------|--------------------------------|-----------------------------|---------------------------|
| Nr. der Generation          | Datum d. Teilung u. Isolierung | Dauer der Generation (Tage) | Bemerkungen            | Nr. der Generation     | Datum d. Teilung u. Isolierung | Dauer der Generation (Tage) | Bemerkungen               |
| —                           | —                              | —                           | —                      | B 162                  | 19. 10. 19                     | 12                          | Schnee u. sonniges Wetter |
| —                           | —                              | —                           | —                      | B 163                  | 31. 10. 19                     | 14                          |                           |
| B 164                       | 14. 11. 19                     | 5                           | 300 Wattl.             | B 164                  | 14. 11. 19                     | 9                           |                           |
| B 165                       | 19. 11. 19                     | 5                           |                        | B 165                  | 28. 11. 19                     | 12                          |                           |
| B 166                       | 24. 11. 19                     | 5                           |                        | B 166                  | 5. 12. 19                      | 23                          |                           |
| B 167                       | 28./29. 11.                    | 4—5                         |                        | B 167                  | 28. 12. 19                     | 19                          |                           |
| B 168                       | 3. 12. 19                      | 4 5                         | v. 2. 12 an 500 Wattl. | B 168                  | 16. 1. 20                      | 15                          |                           |
| B 169                       | 7. 12. 19                      | 4                           |                        | B 169                  | 31. 1. 20                      | 15                          |                           |
| B 170                       | 11. 12. 19                     | 4                           |                        | B 170                  | 15. 2. 20                      |                             |                           |
| B 171                       | 15. 12. 19                     | 4                           |                        |                        | abgebrochen                    |                             |                           |

Rechts ist die starke Abhängigkeit der Teilungsrate von der Jahreszeit (Beleuchtung) ersichtlich. Sie fällt vom 10. Oktober 1919 (Generation 162) bis zum 28. Dezember 1919 erst langsam (bei Generation 164 und 165 trat sogar noch einmal eine Verkürzung infolge Schneefalles und darauffolgenden sonnigen Wetters ein), dann rasch, um hierauf wieder bis Februar langsam anzusteigen. Links sehen wir eine gleichmäßige kurze Teilungsrate. Leider mußte vom 2. 12. 19 an die 300-Wattlampe durch eine 500-Wattlampe für einige Zeit ersetzt werden, weil erstere durchgebrannt war und keine gleiche Ersatzlampe zur Hand war; doch lehrt auch diese Veränderung durch die dauernde Verkürzung der Teilungsrate auf 4 Tage die Abhängigkeit vom Licht. Noch deutlicher ergibt sich der Unterschied zwischen Tageskultur und Kultur bei konstantem Licht aus der Kurve in Textfigur D, die zugleich teilweise den weiteren Verlauf der Zählkultur, die von nun an ganz bei konstantem Licht weitergeführt wurde, demonstriert. Während in den Kulturen bei Tageslicht in ca. 3 Monaten (14. November 19—15. Februar 20) nur 6 Generationen (B 164—169) zur Entwicklung kamen, haben sich in dem gleichen Zeitraum bei künstlichem Licht 21 Generationen (B 164—184) entwickelt (S. auch Zuchtprotokolle S. 256 u. 257).

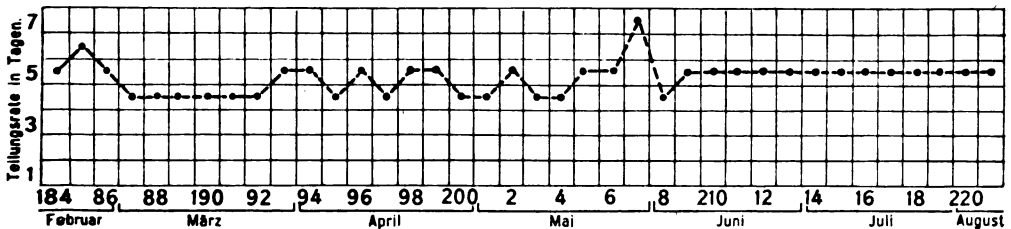
Wie diese Kurve sowie Kurve E und die Zuchtprotokolle S. 257 zeigen, steigt die Teilungsrate nur selten auf 4 Tage oder fällt gelegentlich einmal auf 6 Tage, ist aber im großen und ganzen ziem-

lich konstant. Denn auch diese gelegentlichen Schwankungen von 24—48 Stunden in der Teilungsrate sind in Wirklichkeit geringer als sie zunächst erscheinen. Das Wachstum der Eudorinen geschieht



Textfig. D.

Verhältnis der Tageslichtkultur (Serie B, 162—169) zur bei Generation B 163 abgezweigten Kultur in künstlichem Licht (300 u. 500 Wattlampe) (Serie B 164—184) innerhalb desselben Zeitraumes vom 14. November 1919 bis 15. Februar 1920. (---- Tageslichtkultur, .... Kultur in künstlichem Licht.)



Zahl der Kolonie-Generationen.

Textfig. E. *Eudorina*-Zählkultur in künstlichem Licht (Serie B 184—221) vom 15. Februar bis 8. August 1920.

während der 12stündigen Beleuchtung am Tage, die Teilung vollzieht sich dagegen nur während der Dunkelheit in der Nacht. Wenn

somit das Teilungswachstum nur um wenige Stunden früher erreicht wird als gewöhnlich, so kann dies bereits am Abend des 4. Tages eingetreten sein, und dann teilt sich die Kolonie in der darauffolgenden Nacht und wird am folgenden Morgen vollendet, also nach 4 mal 24 Stunden. Tritt dagegen das Teilungswachstum wie normalerweise erst im Laufe des 5. Tages ein, dann kann sich die Kolonie erst in der darauffolgenden 5. Nacht teilen und die Teilungsrate beträgt daher 5 Tage. Bei einer noch weiteren Hinausschiebung des Teilungswachstums dagegen bis nach Eintritt der Dunkelheit des 5. Tages muß sich die Teilung natürlich bis auf den 6. Tag verschieben. Mit kurzen Worten: ein Schwanken des Teilungswachstums von 12 Stunden bedingt in der tatsächlichen Teilung eine Variabilität von 24 oder 48 Stunden.

Zum Schluß sei nun die ganze Kulturtechnik der normalen Zählkultur nochmals kurz zusammenfassend dargestellt.

Als Kulturgefäße dienen tiefe Uhrschaalen mit geschliffenem Rande, sog. Boverischaalen von 5 cm Durchmesser, die etwa 10 ccm Flüssigkeit aufnehmen. Bedeckt werden sie einfach mit runden Glasscheiben, auf die mit Fettstift zugleich die Notizen gemacht werden. Eine Einfettung des geschliffenen Randes der Kulturschaalen mit Vaseline ist nicht nötig, da die Deckel schon so gut aufliegen und eine absolute Sterilität nicht nötig ist. Unter Umständen ist dies sogar nicht ratsam, da bei Verwendung von nicht ganz einwandfreier Vaseline sich sehr leicht Schädigungen einstellen. Als Nährlösung diente ursprünglich die bekannte KNO<sub>p</sub>'sche Lösung, in einer Konzentration von 0,05 %, von November 1919 an die von BENNECKE angegebene Lösung in derselben Konzentration.

Die Zusammensetzung der beiden Lösungen ist folgende:

| 1. KOP'sche Lösung:               |                   | 2. BENNECKE-Lösung.                  |   |
|-----------------------------------|-------------------|--------------------------------------|---|
| Ca(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> | 2 g (extra lösen) | NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub>      | 0,02 Proz.  |
| KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>   | 0,5 "             | CaCl <sub>2</sub>                    | 0,01 "  |
| KNO <sub>3</sub>                  | 0,5 "             | K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>      | 0,01 "  |
| MgSO <sub>4</sub>                 | 0,5 "             | MgSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O | 0,01 "  |
| H <sub>2</sub> O                  | 350 ccm           | Fe <sub>2</sub> Cl <sub>3</sub>      | 1 Tropfen der off. Lösung auf<br>1500 ccm Nährlösung. |
| Fe <sub>2</sub> Cl <sub>3</sub>   | 1 Tropfen.        |                                      |   |

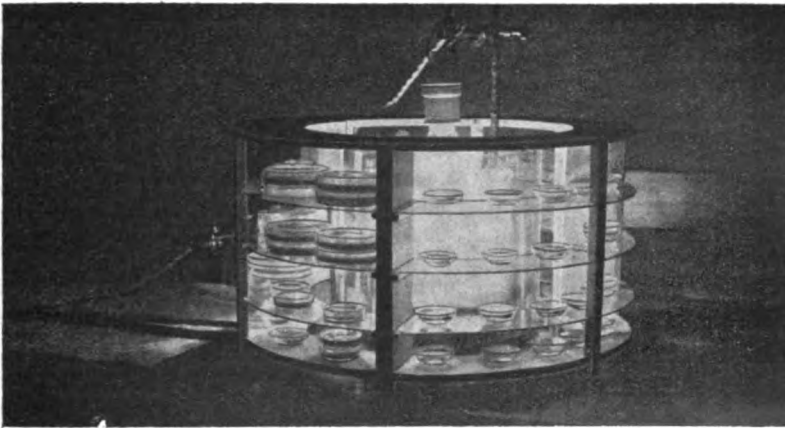
Diese 1 prozentige Lösung wird dann auf 0,05 Proz. verdünnt.

Da für andere Zwecke die Lösungen in sehr verschiedenartiger Konzentration gebraucht werden, so stellen wir konzentriertere Stammlösungen von den einzelnen Salzen her (speziell bei der BENNECKE-Lösung); dieselben werden vor dem Zusammengießen stets

einzelnen verdünnt, da sonst leicht Ausfällungen einzelner Salze auftreten.

Die Überführung der Eudorinen geschieht stets vormittags, wenn die Zellen bereits geteilt, aber bei Lupenvergrößerung noch dicht gedrängt als einzelne Zellen in der stark gequollenen Gallerte der Elternkolonie erscheinen (Fig. 2). Man fischt mit einer sterilen Pipette unter der Lupe einige derartige Kolonien heraus und bringt sie in eine leere Kulturschale. Dann fügt man Nährlösung hinzu, fischt sie nochmals aus und wäscht auf diese Weise die Kolonien je nach Bedürfnis ein- bis zweimal, um schließlich je eine einzelne Kolonie in einem Kulturgefäß weiterzuführen.

Nach kurzer Zeit löst sich dann die Gallerte der Elternkolonie und die jungen Tochterkolonien werden frei. Nach 4–6 Tagen haben dieselben wieder dasselbe Stadium erreicht und müssen dann wieder in derselben Weise weitergeführt werden. Nach dem Übertragen, das sehr rasch vor sich geht, kommen die Kulturen sofort wieder an die künstliche Lichtquelle.



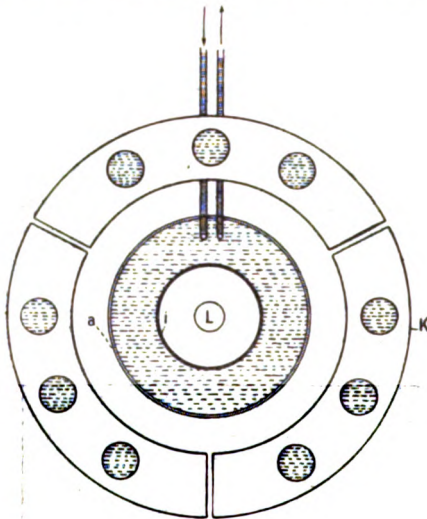
Textfig. F. Künstliche Sonne im Dunkelzimmer photographiert.

Um eine größere Anzahl von Kulturen und zugleich jede einzelne Kultur in gleichem Abstand von der Lichtquelle unterbringen zu können, wurde ein Gestell konstruiert, wie es die Textfig. F zeigt. Es besteht aus 3 Teilen, damit jeder einzelne bequem von der Lichtquelle entfernt werden kann. Jeder Teil hat einen unteren und oberen Holzboden und dazwischen 3 Glasböden, um das Licht ungehindert durchdringen zu lassen. Der untere Holzboden und die Glasböden dienen zur Aufnahme der Kulturgefäße, der obere ist



nur angebracht, um dem ganzen Gestell einen größeren Halt zu geben.

Als Lichtquelle dient eine 300-Watt-Nitralampe von der AEG. Genau mit dem gleichen Erfolg wurden auch die Azo-Lampen angewandt. Die Lampe ist innerhalb einer Kühlung aufgehängt, wie die Textfig. F und G das näher erläutern. Das innere Glasgefäß ist mit Blei beschwert, um das spezifische Gewicht zu erhöhen. Im äußeren Gefäß ist ca. 5 cm unter dem oberen Rand ein Loch gebohrt, um das Kühlwasser abzuleiten; eingeleitet wird es durch ein Glasrohr, das am Boden des Gefäßes mündet. Eine weitere Beschreibung ist wohl überflüssig, da die Abbildungen über alles genauen Aufschluß geben.



Textfig. G.

Künstliche Sonne, Grundriß. L = Lampe,  
i = inneres, a = äußeres Glasgefäß,  
k = Kulturgestell mit Kulturschalen.

Die Lampe befindet sich im Dunkelzimmer und brennt nur 12 Stunden täglich. Die Temperatur auf dem Kulturgestell beträgt, wie schon erwähnt, durchschnittlich 20 bis 22°. Die geringen Temperaturschwankungen spielen gegenüber der Beleuchtung eine so geringe Rolle, daß sie für eine wesentliche Verschiebung der Teilungsrate nicht in Frage kommen und daher unberücksichtigt bleiben können.

Die Lampe befindet sich im Dunkelzimmer und brennt nur 12 Stunden täglich. Die Temperatur auf dem Kulturgestell beträgt, wie schon erwähnt, durchschnittlich 20 bis 22°. Die geringen Temperaturschwankungen spielen gegenüber der Beleuchtung eine so geringe Rolle, daß sie für eine wesentliche Verschiebung der Teilungsrate nicht in Frage kommen und daher unberücksichtigt bleiben können.

Die geringen Temperaturschwankungen spielen gegenüber der Beleuchtung eine so geringe Rolle, daß sie für eine wesentliche Verschiebung der Teilungsrate nicht in Frage kommen und daher unberücksichtigt bleiben können.

#### b) Die anormalen Bedingungen und ihre morphogenetischen Folgen.

Für die genaue Prüfung der normalen Zählkulturen im Hinblick auf das in dieser Arbeit behandelte Problem ist es notwendig, auch die anormalen Bedingungen und die dadurch ausgelösten morphologischen und physiologischen Folgen kennen zu lernen. Schon in dem vorhergehenden Kapitel haben wir gelegentlich eine Reihe von anormalen Bedingungen, die Depressionen auslösen, erwähnt; sie sollen jetzt speziell in ihren Folgen noch etwas eingehender besprochen werden. Die Depressionen äußern sich physiologisch in

der Regel in einer Verkürzung der Teilungsrate (nur manchmal auch in einer Verlängerung) und werden dann morphologisch von einer Reihe von sehr verschiedenen Unregelmäßigkeiten im Aufbau und Anordnung der Kolonie und ihrer Bewegung sowie in der Größe der Einzelzellen gefolgt. In dieser Arbeit soll nicht eine genaue, entwicklungsmechanische Analyse dieser morphologischen Veränderungen gegeben werden, da dieselbe einer später erscheinenden Arbeit, zusammen mit den entsprechenden Vorgängen bei *Gonium*, wo sie viel eingehender und gründlicher studiert wurden, vorbehalten werden sollen. Für unser Problem genügt es, einfach die wichtigsten Typen abnormer Formen und ihre auslösenden Bedingungen tatsächlich kennen zu lernen.

Verunreinigungen, höhere Konzentration der Nährlösung, Niederschläge am Kulturglas und chemische Veränderungen desselben, sowie Wirkung ununterbrochener Beleuchtung erzeugen meist genau die gleichen Folgen, nämlich vorwiegend Verkürzung der Teilungsrate, überstürzte Teilungen, Zwergformen verschiedenster Art. Während bei einer normalen Kultur im Hochsommer bei Tageslicht die Teilungsrate der Kolonie 4—6 Tage beträgt, sinkt sie bei Depressionsstadien auf 3 Tage und noch mehr (s. Zuchtliste Gen. A 3, B 9, 79). Da in der betreffenden Jahreszeit die Teilungsrate je nach Licht und Temperatur zwischen 4 und 7 Tagen schwankt, so könnte man beim Vergleich der Zahlen im Zuchtregister zur Annahme kommen, es handle sich bei der Verkürzung der Teilungsrate auf 3 Tage nur um die gleiche, vom Licht abhängige Variabilität. Doch trifft eine solche Annahme nicht zu, wie die genauere Untersuchung lehrt; denn einmal lassen sich die Depressionen ohne weiteres morphologisch erkennen, und dann geht in Normalkulturen selbst bei optimalen Licht- und Temperaturbedingungen die Teilungsrate nie unter 4 Tage herunter, wie die Kulturen in den sehr günstigen Monaten Juni und Juli 1916 sowie bei konstantem Licht zeigen. Eine Verkürzung auf 3 Tage war immer mit ausgesprochen überstürzten Teilungen meist in Verbindung mit Zwergkolonien von geringerer Zellenzahl und Zellengröße verknüpft, wie sie für die Depressionsstadien der *Eudorina* charakteristisch sind, während in normalen Kulturen die Zahl der Individuen stets 32 beträgt. Andererseits ist auch die Teilungsrate der Depressionsstadien vom Licht abhängig und daher in anderer Jahreszeit (s. Parallelkultur B 78, 79) erheblich länger; doch auch dann ist sie gegenüber der normalen Kultur verkürzt, ja die Verkürzung fällt bei den größeren Zahlen der Teilungsrate noch

mehr auf. So geriet eine von Kultur B 76 abgezeichnete Kultur bei Generation B 79 in Depressionszustand, wobei die Teilungsrate etwa 8—9 Tage betrug, während sie bei der Normalkultur 20 Tage ausmachte. Die Depressionsstadien sind somit durch ihre erheblich verkürzte Teilungsrate gegenüber Normalkulturen ausgezeichnet, also gerade umgekehrt wie bei den Infusorien.

Für unser Problem war es nun wichtig, nachzuweisen, daß die überstürzten Teilungen und Depressionsstadien jederzeit experimentell sich auslösen lassen. Dies geschieht am einfachsten und sichersten entweder durch Beimpfung von Normalkulturen mit einer schädlichen *Protococcoidee* oder durch konstante Dauerbeleuchtung ohne Intervalle. Zum ersten Zwecke wurde eine *Protococcoidee* aus einer verunreinigten, geschädigten Kultur rein gezüchtet und damit eine gute Normalkultur beimpft. Während die Kontrolle dauernd normal blieb, stellten sich bei der beimpften Kultur schon nach der ersten Teilung die Depressionsformen ein. Noch frappanter ist die Wirkung dauernder künstlicher Beleuchtung ohne eingeschaltete Verdunkelung. So wurde z. B. Generation B 184 am 16. Februar 1920 der dauernden Belichtung einer 300 Wattlampe ausgesetzt. Schon am 19. Februar, also bereits nach 3 Tagen, erfolgten zwar noch wenig veränderte, aber immerhin überstürzte Teilungen (Generation B 185), die bei der nächsten Teilung am 21. Februar (Generation B 186) bereits in schwere Depressionsformen übergingen (Fig. 8 u. 9) und bald darauf abstarben. Die untenstehende Liste gibt einen Vergleich dieser Depressionskulturen mit der normalen Kontrollkultur wieder.

| Tag und Nacht beleuchtet; Depression |                                  |                             | Normalkultur; nur Tags beleuchtet |                                  |                             |
|--------------------------------------|----------------------------------|-----------------------------|-----------------------------------|----------------------------------|-----------------------------|
| Nr. der Generation                   | Datum der Teilung und Isolierung | Dauer der Generation (Tage) | Nr. der Generation                | Datum der Teilung und Isolierung | Dauer der Generation (Tage) |
| 184                                  | 16. 2. 1920                      | 3                           | 183                               | 10. 2. 1920                      | 5                           |
| 185                                  | 19. 2. 1920                      | 2                           | 184                               | 15. 2. 1920                      | 5                           |
| 186                                  | 21. 2. 1920                      | 3                           | 185                               | 20. 2. 1920                      | 6                           |
|                                      |                                  |                             | 186                               | 26. 2. 1920                      | 5                           |

Diese Versuche wurden vielfach wiederholt und stets mit dem gleichen Resultat.

Die morphologischen Folgen solcher veränderter Außenbedingungen und der dadurch ausgelösten überstürzten Teilungen sind zumeist unregelmäßige Kolonien mit meist weniger und kleineren Zellen. Als erstes und geringstes Zeichen der Veränderung kann

eine etwas unregelmäßigere Anordnung der Zellen in der Kolonie sowie das Auftreten 16 zelliger Kolonien angesprochen werden. Solche Formen finden sich, wie schon oben mitgeteilt, in reichem Material aus der freien Natur fast immer, und viele ältere Abbildungen beziehen sich ja, wie gleichfalls schon erwähnt, auf solche, leicht veränderte Formen. Da im Freien die Eudorinen den verschiedensten Einflüssen ausgesetzt sind, so ist das ja leicht verständlich. Die unregelmäßige Anordnung verbindet sich dann meist mit verfrühten Teilungen, wobei auch in der Regel die Gleichzeitigkeit der Teilungen Störungen erfährt (Fig. 7). Diese Formen sind gegenüber den normalen Teilungsformen schon deutlich kleiner, wie ein Vergleich der Fig. 7 mit Fig. 6, die bei gleicher Vergrößerung aufgenommen sind, zeigt. Bei längerer oder intensiverer Einwirkung der schädlichen Außenbedingungen, nehmen dann die überstürzten Teilungen und die unregelmäßigen Formen immer mehr zu, so daß schließlich ganz unregelmäßige Zwergformen entstehen, die in den Fig. 8 u. 9 abgebildet sind. Die Zahl der Zellen in diesen abnormen Kolonien schwankt zwischen 4—32, meist sind es weniger als 32; auch kommen nicht nur die als normal zu erwartenden Zahlen: 4, 8, 16, 32, sondern auch alle möglichen anderen ungeraden, sowie größere Zahlen als 32 vor. Schließlich sind die Zellen auch nicht mehr in einer Kugel oder in einem Ellipsoid gleichmäßig angeordnet, sondern mehr oder minder unregelmäßig traubenförmig. Eine sehr auffallende Form, die in der vierten entwicklungsphysiologischen Arbeit besondere Besprechung finden wird, ist das Auftreten von Kolonien in leicht gekrümmten Platten, also ähnlich wie *Gonium*. Dieselbe wird allerdings meist nur bei höheren Nährsalzkonzentrationen ausgelöst und kommt unter den für die Zählkultur leicht möglichen Veränderungen der Außenbedingungen selten vor. Doch trat sie beispielsweise in einer Kultur, die aus BENNECKE-Lösung 0,05 Proz. in konstantem Licht in MOLICH-Lösung ebenfalls bei künstlichem Licht übergeführt worden war, bei der 1. Teilung auf (s. oben Anm. S. 241). Wie schon erwähnt, begnügen wir uns hier mit der einfachen Erwähnung und Schilderung dieser abnormen in Depressionskulturen auftretenden Formen, ohne auf eine entwicklungsphysiologische Analyse näher einzugehen. Die Kenntnis dieser Formen soll uns hier ja nur dazu dienen, die Depressionsformen sofort auch morphologisch zu erkennen.

Nur noch eine Frage bleibt zu erörtern, ob nicht in den Depressionsformen auch innerhalb der Einzelzellen feinere cytologische Veränderungen, besonders an den Kernen und bei der Kernteilung

sich nachweisen lassen. Vielfache cytologische Untersuchungen haben dafür nicht den geringsten Anhaltspunkt ergeben; vielmehr konnte immer wieder festgestellt werden, daß die Vorgänge der Zell- wie vor allem auch der Kernteilung in allen Punkten völlig mit denen normaler Formen übereinstimmen und daß auch sonst in der Zelle resp. am Kern keine morphologisch nachweisbaren Veränderungen aufzufinden sind. Die Fig. 27—29 zeigen die Zell- und Kernteilungen an Depressions(Zwerg)formen, die künstlich durch 7 tägige konstante Beleuchtung (Tag und Nacht) erzeugt waren. Sie stimmen völlig mit den oben beschriebenen und abgebildeten normalen Teilungen überein.

Der einzige Unterschied ist eben der, daß bei den Depressionsformen die Teilung auf früherem Wachstumsstadium einsetzt, der Wachstumsfaktor (Jollos) gehemmt der Teilungsfaktor gesteigert ist, und somit Zwergkolonien auftreten. Ja selbst das Verhältnis von Kern und Plasma, die Kernplasmarelation nach RICHARD HERTWIG, scheint, wie die allerdings in nicht sehr großem Umfange ausgeführten Messungen ergeben haben, bei den Zwergformen gegenüber den Normalformen in keiner Weise erheblich verschoben. Wenn man bedenkt, daß die Eudorinen, wie alle Phythomonadinen, haploide Organismen sind<sup>1)</sup>, so läßt sich auch schwer vorstellen, was für besondere cytologische Vorgänge hier sich abspielen sollen. Da ferner in der *Eudorina*-Zelle rein somatische Kernelemente, die etwa dem Macronucleus der Infusorien entsprechen, fehlen, so ist auch eine der Parthenogenese der Infusorien entsprechende Kern- und Zellregulation nicht zu erwarten.

### 3. Die dauernde agame Zählkultur von *Eudorina elegans*; Zuchtprotokolle.

Die großen Vorzüge, die die Morphologie und Biologie von *Eudorina elegans* für die Lösung des hier behandelten Problems der Möglichkeit einer dauernden agamen Züchtung in genau kontrollierbaren Zählkulturen gegenüber den Infusorien und sonstigen für die

<sup>1)</sup> Davon, daß die Volvocineen haploide Organismen sind, habe ich mich durch Untersuchungen an *Chlorogonium* selbst überzeugen können. Im Herbst 1918 erhielt ich bei *Chl. el.* sexuelle Fortpflanzung. Die cytologische Untersuchung ergab bei den Gametenteilungen von der ersten bis zur letzten Teilung genau die gleichen 10 Chromosomen, wie ich sie bei den agamen Formen gefunden hatte, also ganz in Übereinstimmung mit der alten Angabe von DANGEARD (Abb. s. in HARTMANN, Praktikum der Protozoologie 4. Aufl. 1921).

Entscheidung dieser Frage benützten Organismen wie Algen, Pilze, Myxomyceten usw. bieten, sind folgende:

1. Der Umstand, daß die Befruchtung nicht mit anderen zellbiologischen Vorgängen verknüpft ist, wie z. B. die Schaffung eines neuen Somakernes, Macronucleus bei den Infusorien, erlaubt eine schärfere Fragestellung und saubere Lösung des Problems. Dieser Vorteil wird noch dadurch wesentlich erhöht, daß *Eudorina* ein haploider Organismus ist, so daß auch keine Komplikation durch Reduktionsteilungen sich hier einschalten kann (s. hierzu Allgemeiner Teil S. 262 u. 263).

2. Infolge seines rein autotrophen (pflanzlichen) Stoffwechsels sind die Außenbedingungen bei *Eudorina* viel durchsichtiger und leichter herzustellen, wodurch die Möglichkeit einer völlig exakten Beherrschung der Kultur gegeben ist, wie das vorhergehende Kapitel eingehend gezeigt hat, während das z. B. bei Infusorien und Myxomyceten nicht in dieser Weise möglich ist.

3. Ein dritter Punkt, der *Eudorina* gegenüber Fadenalgen und Pilzen (KLEBS) sowie Plasmodien (KLEBS, JAHN) auszeichnet, ist der, daß es trotz des Koloniecharakters ein streng geschlossenes biologisches System (DRIESCH) darstellt, an denen allein die Frage sauber und rein zu entscheiden ist (s. Allgemeiner Teil S. 264).

4. Der vierte, nicht zu gering einzuschätzende Vorzug schließlich besteht darin, daß die Einzelkulturen bei *Eudorina* infolge des Kolonialverbandes und des Zusammenfallens von 5 Teilungsschritten auf einen Zeitpunkt technisch außerordentlich leicht und bequem geführt und kontrolliert werden können (z. B. gegenüber *Chlamydomonas*-Arten und *Amoeba diploidea*).

Nachdem, wie oben eingehend geschildert, alle Schwierigkeiten der dauernden Kultur überwunden, und die Außenbedingungen konstant gestaltet werden konnten, ist nun *Eudorina elegans* seit dem 15. 6. 1915 bis heute über 1300 Individualgenerationen hindurch rein agam, ohne sonstige Kern- und Zellregulation gezüchtet.

Die S. 253 ff. wiedergegebenen Zuchtlisten geben genauen Aufschluß über den Verlauf der Kulturen im Verlauf dieser 5 Jahre. In der früheren Arbeit war bereits über 550 Generationen berichtet worden. Die Zuchtlisten darüber sind hier nochmals abgedruckt. Wie damals schon erwähnt, ging im ersten Winter im Februar 1916 die Zählkultur A bei der Generation 29 am Nordfenster zugrunde, doch war es möglich, die Zählkultur weiterzuführen, da von der Generation A 24 ab eine Parallelkultur am Südfenster, jedoch geschützt vor direkten Sonnenstrahlen, geführt worden war. Nur konnte bei

Abbruch der Generation A 29 die Zahl der Generationen vom Südfenster nicht mehr genau festgestellt, sondern nur etwa auf 32—34 angegeben werden, da die Notizen der genauen Teilungsraten nicht aufbewahrt worden waren. Die von hier aus gezüchtete Kultur ist dann als Kulturserie B mit neuen Generationszahlen bezeichnet worden. Die durch den Tod der Kultur A verursachte Fehlerquelle bezieht sich somit nur auf die etwas größere oder geringere Gesamtzahl der Generationen, da auch in den Südfensterkulturen, von denen die Serie B abstammte, sicher keine Depressionen stattgefunden haben. Bei der Berechnung der Gesamtzahl der Generationen, die sich aus Serie A und B zusammensetzen, ist die geringstmögliche Anzahl der Südfensterkulturen angenommen, also 32 Generationen, und es könnte somit höchstens die wirkliche Zahl der Generationen um 2 Koloniegenerationen, also  $5 \times 2 = 10$  Individualgenerationen mehr betragen.

Die folgenden Jahre 1917—19 zeigten genau denselben Verlauf der Kultur: im Sommer gleichmäßige kurze Teilungsrate, von Herbst bis Frühjahr erhebliche Schwankungen. In dem Winter 1917/18 und 1918/19 wurden die ungünstigen Zuchtbedingungen durch größere Parallelserien gleichzeitig am Nord- und Ostfenster leichter überwunden als im ersten Winter.

Ganz anders wurde das Bild nach Anwendung der konstanten Lichtquelle (s. Textfig. D u. E S. 243). Jetzt verlief die Kultur Sommer und Winter völlig gleich. Die außerordentliche Gleichmäßigkeit der Teilungsrate von Generation B 164 ab erhellt durch den Vergleich mit den vorangegangenen Generationen etwa von 115—164 ohne weiteres. (Man vergleiche auch die Kurve Textfig. B mit denen der Textfig. D u. E.) Da in den Zuchtlisten nur die Kolonialgenerationen gezählt sind, so müssen, um die richtige Zahl der Individualgenerationen zu erhalten, diese Nummern immer mit 5 multipliziert werden. Mit Generation B 168 (3. 12. 1920) war dann unter diesen Bedingungen die tausendste Individualgeneration erhalten worden (A 1—32, B 1—168, zusammen 200 Kolonialgenerationen = 1000 Individualgenerationen). Bis zum 13. 9. 1920 (Gen. B 228) war die Zahl der Individualgenerationen auf 1300 erhöht<sup>1)</sup>.

Da, wie in den vorstehenden Kapiteln eingehend ausgeführt worden ist, unter den jetzigen Versuchsbedingungen alle Voraussetzungen für die exakte Kontrolle und die gleichmäßige Führung

<sup>1)</sup> Anm. bei der Korrektur. Inzwischen ist die Zahl der Generationen auf 1500 gestiegen.

der Zählkulturen gegeben sind, so dürfte in Hinblick auf die jetzt erreichte Zahl der Generationen (1300) und die Dauer der Versuche (5 Jahre) die eingangs gestellte Frage nach der Möglichkeit einer dauernden agamen Züchtung ohne Befruchtung und ohne Depression und Regulation durch die Versuche mit Eudorinen eine klare, bejahende Beantwortung erfahren haben.

## Zuchtlisten.

## Zuchtserie A.

| Nr. der Generation | Datum der Teilung und Isolierung | Dauer der Generation (Tage) | Bemerkungen   |
|--------------------|----------------------------------|-----------------------------|---|
| 1                  | —                                | —                           |   |
| 2                  | 10. 6. 1915                      | 7                           |   |
| 3                  | 17. 6. "                         | 7                           |   |
| 4                  | 24. 6. "                         | 8                           |   |
| 5                  | 2. 7. "                          | 8                           |   |
| 6                  | 10. 7. "                         | 3                           | Depression durch Verunreinigung (überstürzte Teilungen)                           |
| 7                  | 13. 7. "                         | 4                           |   |
| 8                  | 17. 7. "                         | 5                           |   |
| 9                  | 22. 7. "                         | 4                           |   |
| 10                 | 26. 7. "                         | 5                           |   |
| 11                 | 31. 7. "                         | 4                           |   |
| 12                 | 4. 8. "                          | 6                           |   |
| 13                 | 10. 8. "                         | 9                           | Wettersturz, starke Lichtverminderung und Abkühlung                               |
| 14                 | 19. 8. "                         | 7                           |   |
| 15                 | 26. 8. "                         | 5                           |   |
| 16                 | 31. 8. "                         | 8                           |   |
| 17                 | 8. 9. "                          | 7                           |   |
| 18                 | 15. 9. "                         | 7                           |   |
| 19                 | 22. 9. "                         | 8                           |   |
| 20                 | 30. 9. "                         | 7                           |   |
| 21                 | 7. 10. "                         | 14                          | Wetterabfall, starke Lichtverminderung und Abkühlung                              |
| 22                 | 21. 10. "                        | 8                           |   |
| 23                 | 29. 10. "                        | 9                           |   |
| 24                 | 7. 11. "                         | 11                          | Sinken der Teilungsrate wegen Lichtmangel im Winter                               |
| 25                 | 18. 11. "                        | 16                          |   |
| 26                 | 4. (8.) 12. 15                   | 19                          |   |
| 27                 | 23. 12. 1915                     | 24                          |   |
| 28                 | 16. 1. 1916                      | 24                          | Kultur kümmerte wegen Lichtmangel und darauffolgender Verunreinigung und ging ein |
| 29                 | 6. 2. "                          | —                           |   |

Von der Kultur A 24, die seit dem 7. November 1915 am Südfenster weitergezüchtet worden war (etwa 32.—34. Generation?), wurden neue Zählkulturen (Zuchtserie B) angelegt.



## Zuchtserie B.

| Nr. der Generation | Datum der Teilung und Isolierung | Dauer der Generation (Tage) | Bemerkungen  |
|--------------------|----------------------------------|-----------------------------|--|
| 1                  | 10. 3. 1916                      | 10                          |  |
| 2                  | 20. 3. "                         | 15                          | Für 3. Generation auf zurückgebliebene Kolonie gegriffen, da Schwesterkolonie verunreinigt |
| 3                  | 4. 4. "                          | 6                           |  |
| 4                  | 9. 4. "                          | 6                           |  |
| 5                  | 15. 4. "                         | 7                           |  |
| 6                  | 22. 4. "                         | 9                           |  |
| 7                  | 1. 5. "                          | 5                           |  |
| 8                  | 6. 5. "                          | 10                          |  |
| 9 <sub>a</sub>     | 16. 5. "                         | 5                           |  |
| 10                 | 21. 5. "                         | 5                           |  |
| 11                 | 26. 5. "                         | 5                           |  |
| 12                 | 31. 5. "                         | 4                           |  |
| 13                 | 5. 6. "                          | 5                           |  |
| 14                 | 10. 6. "                         | 4                           |  |
| 15                 | 14. 6. "                         | 5                           |  |
| 16                 | 19. 6. "                         | 4                           |  |
| 17                 | 23. 6. "                         | 4                           |  |
| 18                 | 27. 6. "                         | 4                           |  |
| 19                 | 1. 7. "                          | 4                           |  |
| 20                 | 5. 7. "                          | 4                           |  |
| 21                 | 9. 7. "                          | 4                           |  |
| 22                 | 13. 7. "                         | 4                           |  |
| 23                 | 17. 7. "                         | 5                           |  |
| 24                 | 22. 7. "                         | 4                           |  |
| 25                 | 26. 7. "                         | 4                           |  |
| 26                 | 30. 7. "                         | 5                           |  |
| 27                 | 4. 8. "                          | 5                           |  |
| 28                 | 9. 8. "                          | 5 <sup>1/2</sup>            |  |
| 29                 | 15. 8. "                         | 5 <sup>1/2</sup>            |  |
| 30                 | 20.—21. 8. 1916                  | 5 <sup>1/2</sup>            |  |
| 31                 | 26. 8. 1916                      | 6                           |  |
| 32                 | 1. 9. "                          | 6                           |  |
| 33                 | 7. 9. "                          | 8                           |  |
| 34                 | 15. 9. "                         | 7                           |  |
| 35                 | 22. 9. "                         | 7                           |  |
| 36                 | 29. 9. "                         | 12                          |  |
| 37                 | 11. 10. "                        | 7                           |  |
| 38                 | 18. 10. "                        | 11                          |  |
| 39                 | 29. 10. "                        | 9                           |  |
| 40                 | 7. 11. "                         | 12                          |  |
| 41                 | 16. 11. "                        | 21                          | Parallelkulturen in künstlichem Licht (100 Watt Nitralampe)                                |
| 42                 | 7. 12. "                         | 18                          |  |
| 43                 | —                                | 18                          | 18. 11. 11 Tage  |
| 44                 | 12. 1. 1917                      | 17                          | 29. 11. 8 Tage   |
|                    |                                  |                             | 7. 12. 9 "   |
|                    |                                  |                             | 16. 12. ? "  |
| 45                 | 29. 1. "                         | 20?                         | Degeneriert, abgebrochen   |

| Nr. der Generation | Datum der Teilung und Isolierung | Dauer der Generation (Tage) | Bemerkungen                 |
|--------------------|----------------------------------|-----------------------------|-----------------------------|
| 46                 | —                                | 25 ?                        |                             |
| 47                 | —                                | 25 ?                        |                             |
| 48                 | 31. 3. 1917                      | 12                          |                             |
| 49                 | 12. 4. "                         | 13                          |                             |
| 50                 | 25. 4. "                         | 10                          |                             |
| 51                 | 7. 5. "                          | 5                           |                             |
| 52                 | 12. 5. "                         | 6                           |                             |
| 53                 | 18. 5. "                         | 5                           |                             |
| 54                 | 23. 5. "                         | 6                           |                             |
| 55                 | 29. 5. "                         | 7                           |                             |
| 56                 | 5. 6. "                          | 9                           |                             |
| 57                 | 14. 6. "                         | 5                           |                             |
| 58                 | 19. 6. "                         | 5                           |                             |
| 59                 | 24. 6. "                         | 5                           |                             |
| 60                 | 29. 6. "                         | 6                           |                             |
| 61                 | 5. 7. "                          | 6                           |                             |
| 62                 | 11. 7. "                         | 7                           |                             |
| 63                 | 18. 7. "                         | 7                           |                             |
| 64                 | 25. 7. "                         | 8                           |                             |
| 65                 | 2. 8. "                          | 6                           |                             |
| 66                 | 8. 8. "                          | 7                           |                             |
| 67                 | 15. 8. "                         | 6                           |                             |
| 68                 | 21. 8. "                         | 6                           |                             |
| 69                 | 27. 8. "                         | etwa 8                      |                             |
| 70                 | Zahlen verloren gegangen         | "                           |                             |
| 71                 | durchschnittlich                 | "                           |                             |
| 72                 |                                  | "                           |                             |
| 73                 | 27. 9. 1917                      | 8                           |                             |
| 74                 | 5. 10. "                         | 9                           |                             |
| 75                 | 14. 10. "                        | 9                           |                             |
| 76                 | 2. 11. "                         | 13 (19)                     |                             |
| 77                 | 15. (21.) 11. 1917               | 20 (13)                     | In Klammern Parallelkultur, |
| 78                 | 5. (4.) 12. "                    | (8—9)                       | geriet bei Generation 79 in |
| 79                 | 11. 1. 1918 "                    | 26                          | Depression                  |
| 80                 | 6. 2. "                          | 16                          |                             |
| 81                 | 22. 2. "                         | 11                          |                             |
| 82                 | 5. 3. "                          | 7                           |                             |
| 83                 | 12. 3. "                         | 6                           |                             |
| 84                 | 18. 3. "                         | 7                           |                             |
| 85                 | 25. 3. "                         | 7                           |                             |
| 86                 | 1. 4. "                          | 5                           |                             |
| 87                 | 6. 4. "                          | 5                           |                             |
| 88                 | 12. 4. "                         | 6                           |                             |
| 89                 | 18. 4. "                         | 8                           |                             |
| 90                 | 26. 4. "                         | 8                           |                             |
| 91                 | 2. 5. "                          | 8                           |                             |
| 92                 | 7. 5. "                          | 6                           |                             |
| 93                 | 13. 5. "                         | 5                           |                             |
| 94                 | 18. 5. "                         | 6                           |                             |
| 95                 | 24. 5. "                         | 5                           |                             |
| 96                 | 29. 5. "                         | 6                           |                             |
| 97                 | 3. 6. "                          | 6                           |                             |
| 98                 | 8. 6. "                          | 4                           |                             |
| 99                 | 12. 6. "                         | 6                           |                             |
| 100                | 18. 6. "                         | 5                           |                             |

| Nr. der Generation | Datum der Teilung und Isolierung | Dauer der Generation (Tage) | Bemerkungen                      |
|--------------------|----------------------------------|-----------------------------|----------------------------------|
| 101                | 23. 6. 1918                      | 6                           |                                  |
| 102                | 29. 6. "                         | 4                           |                                  |
| 103                | 3. 7. "                          | 5                           |                                  |
| 104                | 8. 7. "                          | 5                           |                                  |
| 105                | 13. 7. "                         | ca 5-6                      |                                  |
| 106-113            | Notizen verloren                 |                             |                                  |
| 113?               | 29. 8. "                         | 6                           |                                  |
| 114                | 4. 9. "                          | 6                           |                                  |
| 115                | 10. 9. "                         | 6                           |                                  |
| 116                | 16. 9. "                         | 7                           |                                  |
| 117                | 23. 9. "                         | 8                           |                                  |
| 118                | 1. 10. "                         | 10                          |                                  |
| 119                | 11. 10. "                        | 13                          |                                  |
| 120                | 24. 10. "                        | 20                          |                                  |
| 121                | 13. 11. "                        | 13                          |                                  |
| 122                | 26. 11. "                        | 13                          |                                  |
| 123                | Notizen verloren gegangen        | —                           |                                  |
| 124                | 6. 1. "                          | 9                           |                                  |
| 125                | 15. 1. "                         | 8                           |                                  |
| 126                | 23. 1. 1919                      | 8                           |                                  |
| 127-131            | Notizen verloren                 | ca. 9-10                    |                                  |
| 132                | 26. 3. "                         | 8                           |                                  |
| 133                | 3. 4. "                          | 12                          |                                  |
| 134                | 15. 4. "                         | 8                           |                                  |
| 135                | 23. 4. "                         | 7                           |                                  |
| 136                | 30. 4. "                         | 10                          |                                  |
| 137                | 11. 5. "                         | 12                          |                                  |
| 138                | —                                | —                           |                                  |
| 139                | 24. 5. "                         | 7                           |                                  |
| 140                | 1. 6. "                          | 4                           |                                  |
| 141                | 5. 6. "                          | 6                           |                                  |
| 142                | 11. 6. "                         | 6                           |                                  |
| 143                | 17. 6. "                         | 7                           |                                  |
| 144                | 24. 6. "                         | 6                           |                                  |
| 145                | 30. 6. "                         | 4                           |                                  |
| 146                | 4. 7. "                          | 6                           |                                  |
| 147                | 10. 7. "                         | 4                           |                                  |
| 148                | 14. 7. "                         | 4                           |                                  |
| 149                | 18. 7. "                         | 6                           |                                  |
| 150                | 24. 7. "                         | 7                           |                                  |
| 151                | 31. 7. "                         | 6                           |                                  |
| 152                | 6. 8. "                          | 7                           |                                  |
| 153                | 13. 8. "                         | 6                           |                                  |
| 154                | 19. 8. "                         | 5                           |                                  |
| 155                | 24. 8. "                         | 5                           |                                  |
| 156                | 29. 8. "                         | 5                           |                                  |
| 157                | 3. 9. "                          | 7                           |                                  |
| 158                | 10. 9. "                         | 8                           |                                  |
| 159                | 18. 9. "                         | 10                          |                                  |
| 160                | 29. 9. "                         | 11                          |                                  |
| 161                | 9. 10. "                         | 10                          |                                  |
| 162                | 14. 10. "                        | 12                          |                                  |
| 163                | 31. 10. "                        | 14                          |                                  |
| 164                | 14. 11. "                        | 5                           | Von hier ab bei konstantem Licht |
| 165                | 19. 11. "                        | 5                           |                                  |

| Nr. der Generation | Datum der Teilung und Isolierung | Dauer der Generation (Tage) | Bemerkungen  |
|--------------------|----------------------------------|-----------------------------|--|
| 166                | 24. 11. 1919                     | 5                           |  |
| 167                | 28./29. 11. 1919                 | 4—5                         |  |
| 168                | 3. 12. 1919                      | 4—5                         | 1000 Gen.  |
| 169                | 7. 12. "                         | 4                           |  |
| 170                | 11. 12. "                        | 4                           |  |
| 171                | 15. 12. "                        | 4                           |  |
| 172                | 19. 12. "                        | 4                           |  |
| 173                | 23. 12. "                        | 5                           |  |
| 174                | 28. 12. "                        | 6                           | sehr kalt  |
| 175                | 3. 1. 1920                       | 4                           |  |
| 176                | 7. 1. "                          | 5                           |  |
| 177                | 12. 1. "                         | 5                           |  |
| 178                | —                                | ca. 7                       | } wegen Erkrank. konnte nicht kontrolliert u. rechtzeitig weitergeführt werden |
| 179                | —                                | " 7                         |  |
| 180                | 26. 1. "                         | 5                           |  |
| 181                | 31. 1. "                         | 5                           |  |
| 182                | 5. 2. "                          | 5                           |  |
| 183                | 10. 2. "                         | 5                           |  |
| 184                | 15. 2. "                         | 5                           |  |
| 185                | 20. 2. "                         | 6                           |  |
| 186                | 26. 2. "                         | 5                           |  |
| 187                | 3. 3. "                          | 4                           |  |
| 188                | 7. 3. "                          | 4                           |  |
| 189                | Aufzeichnung verloren            | 4                           |  |
| 190                | " "                              | 4                           |  |
| 191                | 19. 3. 1920                      | 4                           |  |
| 192                | Zahlen verloren                  | 4?                          |  |
| 193                | —                                | 5?                          |  |
| 194                | 1. 4. 1920                       | 5                           |  |
| 195                | 6. 4. "                          | 4                           |  |
| 196                | 10. 4. "                         | 5                           |  |
| 197                | 15. 4. "                         | 4                           |  |
| 198                | 19. 4. "                         | 5                           |  |
| 199                | 24. 4. "                         | 5                           |  |
| 200                | 29. 4. "                         | 4                           |  |
| 201                | 3. 5. "                          | 4                           |  |
| 202                | 7. 5. "                          | 5                           |  |
| 203                | 12. 5. "                         | 4                           |  |
| 204                | 16. 5. "                         | 4                           |  |
| 205                | 20. 5. "                         | 5                           |  |
| 206                | 25. 5. "                         | 5                           |  |
| 207                | 30. 5. "                         | 7                           | verunreinigt, zurückgegriffen auf 203  |
| 208                | 6. 6. "                          | 4                           |  |
| 209                | 10. 6. "                         | 5                           |  |
| 210                | 15. 6. "                         | 5                           |  |
| 211                | 20. 6. "                         | 5                           |  |
| 212                | 25. 6. "                         | 5                           |  |
| 213                | 30. 6. "                         | 5                           |  |
| 214                | 4. 7. "                          | 5                           |  |
| 215                | 9. 7. "                          | 5                           |  |
| 216                | 14. 7. "                         | 5                           |  |
| 217                | 19. 7. "                         | 5                           |  |
| 218                | 24. 7. "                         | 5                           |  |
| 219                | 29. 7. "                         | 5                           |  |
| 220                | 3. 8. "                          | 5                           |  |

| Nr. der Generation | Datum der Teilung und Isolierung | Dauer der Generation (Tage) | Bemerkungen |
|--------------------|----------------------------------|-----------------------------|-------------|
| 221                | 8. 8. 1920                       | 5                           |             |
| 222                | —                                | 6                           |             |
| 223                | 19. 8.                           | 4                           |             |
| 224                | 23. 8. "                         | 5                           |             |
| 225                | 28./29. 8. "                     | 6                           |             |
| 226                | 3. 9. "                          | 6                           |             |
| 227                | 9. 9. "                          | 4                           |             |
| 228                | 13. 9. "                         | 5                           |             |

## B. Allgemeiner Teil.

### 1. Die Problemlage.

Der historische Ausgangspunkt für das hier behandelte Problem und seine experimentellen Lösungsversuche war die von BÜTSCHLI in seiner klassischen Arbeit von 1876 aufgestellte Verjüngungshypothese der Befruchtung, nach der die Bedeutung der Befruchtung als ein Verjüngungs- oder Regulationsvorgang angesehen wird, der hervorgerufen und bedingt sei durch ein Altern, wenn auch nicht der Individuen, so doch der Generationen. BÜTSCHLI hat in dieser Arbeit auch schon einige experimentelle Versuche an *Paramaecium putrinum* zur Lösung dieser Hypothese mitgeteilt und damit zugleich die Versuchsidee angegeben für alle die weiteren experimentellen Arbeiten, die bis auf den heutigen Tag über diesen Gegenstand ausgeführt worden sind. Er verhinderte nämlich durch öftere Überführung in frische Kulturflüssigkeiten das Eintreten der Conjugation und konstatierte hierbei das Auftreten von sog. physiologischen Degenerationen, wie sie später MAUPAS genannt hat.

Ein weit erheblicheres Interesse hatte jedoch dieses Problem und die seiner Lösung dienenden Experimente erst durch die Verknüpfung mit der 1882 von WEISMANN aufgestellten Idee der potentiellen Unsterblichkeit der Protozoen gewonnen. Dieselbe besagt bekanntlich, daß die Protozoen als einzellige Wesen insofern potentiell unsterblich seien, als sie bei ihrer Fortpflanzung ohne Leiche in zwei Tochterzellen sich teilen und somit dieselbe Lebenssubstanz, dieselben Körper theoretisch ad infinitum weiterzuleben vermögen. WEISMANN folgerte daraus weiter, daß das Altern nicht unbedingt mit dem Lebensprozeß verbunden und der Tod erst bei den viel-

zelligen Tieren mit der Differenzierung in Soma und Keimplasma aufgetreten sei. Damit sprach er zugleich der Befruchtung jede Bedeutung als verjüngenden Prozeß ab. BÜTSCHLI dagegen, der selbständig und unabhängig von WEISMANN den Gedanken der Unsterblichkeit der Protozoen ausgesprochen hatte, hielt, obwohl er auch der damit in Zusammenhang stehenden Keimplasmalehre völlig zustimmte, mit dieser Auffassung eine verjüngende Wirkung der Befruchtung wohl für vereinbar, ja nach seinen Versuchen und den späteren von MAUPAS für erwiesen. Durch Dauerzuchten unter Ausschalten von Befruchtung, wie dies BÜTSCHLI zuerst nur zur Prüfung der Verjüngungshypothese der Befruchtung getan hatte, suchte man in der Folgezeit — MAUPAS hat dies zuerst in umfassenden Versuchen durchgeführt — nicht nur diese Befruchtungshypothese, sondern vor allem das von WEISMANN aufgerollte Problem des physiologischen Todes bei den Protozoen experimentell seiner Lösung zuzuführen.

Die durch WEISMANN inaugurierte Verquickung der Unsterblichkeitslehre mit dem Befruchtungsproblem hatte die ursprünglich von BÜTSCHLI rein physiologisch gefaßte Fragestellung erheblich verwischt und seit der Zeit werden bis auf den heutigen Tag sehr zum Nachteil einer sauberen Problemstellung die Begriffe „Alter“ und „Verjüngung“, „Tod“ und „Unsterblichkeit“ in ganz verschiedenem Sinne gebraucht. Während die Begriffe „Alter“ und „Tod“ ursprünglich von den Verhältnissen bei den höheren Tieren ausgehen, und hier eng mit dem Begriff der Individualität verknüpft sind (s. auch KLEBS 1917, S. 397), sind sie später durch WEISMANN unbedenklich auf Generationsreihen übertragen worden. Wenn in der Literatur von Altern und Tod gesprochen wird, so geschieht dies meist ohne nähere Bezeichnung, bald in bezug auf Individuen, bald auf Generationen. Will man daher nicht in nutzlose Wortstreitereien verfallen, dann muß man scharf zwischen dem Altern bzw. Tod der Individuen und dem der Generationen unterscheiden, oder noch besser die Begriffe Tod und Unsterblichkeit auf die Individuen beschränken, für die sie ursprünglich geprägt sind. Da somit diese Begriffe wegen ihrer Vieldeutigkeit, wie auch KLEBS 1917 hervorhebt, für eine wissenschaftliche Begriffsbildung nicht geeignet sind, so haben wir für die obigen Versuche diese Begriffe zunächst ganz ausgeschaltet und uns mit der hier nochmals wiederholten einfachen physiologischen Fragestellung begnügt: „Ist es möglich, Organismen, die in der freien Natur regelmäßig geschlechtliche

Fortpflanzung neben einer ungeschlechtlichen aufweisen, dauernd ungeschlechtlich zu vermehren ohne jegliche Schädigung, oder Depression und ohne irgend welche anderen regulierenden Zellvorgänge als die, welche bei der gewöhnlichen Zell- und Kernteilung sich finden?“ (HARTMANN 1917).

Alle experimentellen Untersuchungen der früheren Autoren zu dem hier vorliegenden Problemkomplex, wie auch die oben mitgeteilten eigenen Versuche können zunächst nur diese speziell physiologische Frage beantworten. Da allerdings in diesen Versuchen die Befruchtung völlig ausgeschaltet wird, so tritt die Beantwortung dieser Frage auch in engste Beziehung zum Befruchtungsproblem, denn die dauernde Ausschaltung der Befruchtung mit oder ohne folgende Schädigungen, erlaubt es selbstverständlich, wichtige Schlüsse über die eventuelle Notwendigkeit der Befruchtung usw. zu ziehen.

Nicht ohne weiteres sind aus diesen Experimenten aber Schlüsse auf das Todproblem zulässig, wenn man Wert auf scharfe wissenschaftliche Begriffsbildung legt, und die wissenschaftliche Begriffsbildung nicht in vagen verschwommenen Bildern und Analogien versanden soll. Da gilt es dann, klar und scharf die Frage eines eventuellen Alterns von Generationen und Individuen auseinanderzuhalten und den zwar sehr bequemen, aber unklaren Begriff der „Unsterblichkeit“ womöglich vollkommen zu vermeiden. Die sachlichen und logischen Folgerungen aus den experimentellen Untersuchungen der obigen Art sollen daher hier für das Befruchtungs- und Todproblem ganz streng gesondert behandelt werden. Zuvor aber gilt es noch, auch die oben gekennzeichnete spezielle physiologische Fragestellung und die bisherigen, dazu vorliegenden Versuche einer kritischen Betrachtung zu unterziehen, inwieweit die benutzten Objekte nach ihren biologischen Bedingungen und Verhältnissen zur Lösung dieser Frage herangezogen werden können und inwieweit die benutzten Methoden allen kritischen Anforderungen entsprachen.

Nachdem BÜTSCHLI und MAUPAS zuerst durch Versuche an Infusorien zu dem Resultat gekommen waren, daß bei diesen Organismen nach einer längeren Kultur ohne Conjugation eine senile Degeneration einträte, haben die Infusorien bis auf den heutigen Tag fast ausschließlich als Objekte zu solchen Versuchen gedient. Außer BÜTSCHLI und MAUPAS haben sich hauptsächlich KLEBS (1900), RICHARD HERTWIG (1904 usw.) und seine Schüler, ENRIQUES, CALKINS,

WOODRUFF sowie WOODRUFF u. ERDMANN mit diesen Versuchen beschäftigt. KLEBS (1896—1900) hat weiter derartige Versuche in großem Umfange an Algen, Pilzen und Myxomyceten, ERDMANN an *Amoeba diploidea* und ganz neuerdings JAHN (1920) an Myxomyceten ausgeführt.

Betrachten wir zunächst die Infusorienversuche. Ohne hier auf eine historische Besprechung dieser Arbeiten näher einzugehen — in neuerer Zeit ist über diese Versuche vielfach zusammenfassend berichtet worden, so von LIPSCHÜTZ, KORSCHULTZ, JOLLOS, DOFLEIN, worauf hier zur weiteren Orientierung hingewiesen sei — sei nur kritisch der gegenwärtige Stand dieser Frage bei den Infusorien kurz dargelegt. Schon BÜTSCHLI hatte gegenüber den Versuchen von MAUPAS darauf aufmerksam gemacht, daß derartigen Experimenten nur dann strenge Beweiskraft zukäme, wenn sie bei konstanter Temperatur und an genau kontrollierten Zählkulturen durchgeführt werden. Solche Bedingungen wurden zwar von R. HERTWIG und seinen Schülern sowie CALKINS teilweise realisiert, doch war bei den Zuchtversuchen dieser Forscher nicht für genügende Entfernung der Exkretstoffe Sorge getragen worden, die dann Depressionen auslösten. Erst WOODRUFF züchtete seit Mai 1907 *Paramecium aurelia* in exakten Zählkulturen bei täglicher Erneuerung des Kulturmediums, als welches eine gleichmäßig hergestellte Bouillonlösung diente, in der verschiedene Arten von Bakterien zur Entwicklung gelangten. Trotz der gleichmäßigen Herstellung der Kulturflüssigkeit sind natürlich auf diese Weise wegen der Entwicklung sehr verschiedener Bakterien eine absolut gleichmäßige Ernährung und gleichmäßige Außenbedingungen nicht möglich. Immerhin konnte WOODRUFF von 1907—1917 4500 Generationen von *Paramecium aurelia* ohne Befruchtung und ohne jegliche Spur von Degeneration oder Depression züchten. Durch diese Versuche schien in der Tat erwiesen zu sein, daß „Altern(?) und Befruchtungsbedürfnis nicht Eigenschaften der lebenden Substanz sind“ (WOODRUFF).

Es trat jedoch bei den Infusorienversuchen nochmals eine Überraschung auf. WOODRUFF hatte in seinen Kulturen beobachtet, daß in ganz bestimmten Intervallen (nach ca. 50—90 Generationen) Schwankungen und zwar Verlangsamungen der Teilungsrate auftreten, die er „Rhythmen“ nannte. Die Untersuchungen von WOODRUFF-ERDMANN 1914/15 haben dann die interessante Tatsache ergeben, daß während dieser Rhythmen der alte Macronucleus wie bei der Conjugation zugrunde geht und durch wiederholte Micronucleusteilungen, die ganz den Reifeteilungen sowie den nach der Conjugation



der Neubildung des Macronucleus dienenden Kernteilungen gleichen, ein neuer Macronucleus gebildet wird. Derartige Vorgänge hatte früher schon RICHARD HERTWIG (1889, 1914) beobachtet und wohl mit Recht als Parthenogenese bezeichnet. Während aber nun WOODRUFF u. ERDMANN gefunden haben, daß diese Rhythmen streng periodisch auftreten, und daher glaubten, daß sie allein aus inneren Bedingungen veranlaßt seien, konnte JOLLOS (1916) durch vielfach variierte Versuche zeigen, daß das Auftreten der Rhythmen durch äußere Faktoren ausgelöst werden kann<sup>1)</sup>. Durch Anhäufung der Stoffwechselprodukte, durch Temperaturveränderungen und chemische Einwirkungen war JOLLOS einerseits imstande, die Rhythmen jederzeit, also nicht erst nach 100 Generationen auszulösen, andererseits konnte er durch Halten der Zählkulturen in größeren Gefäßen und unter Vermeidung des häufigen Umpipettierens das Eintreten der Rhythmen (bis zur ca. 190. Generation) weiter hinausschieben. Und es ergibt sich aus diesen Versuchen, daß das gleichmäßig periodische Auftreten der Parthenogenese in den Zuchten von WOODRUFF auf die gleichmäßige Kulturtechnik dieses Forschers zurückzuführen ist, bei der sich die kleinen Schädigungen eben so summieren, daß sie in bestimmten Perioden die Parthenogenese auslösen. Wenn durch diese Versuche von JOLLOS nun auch gezeigt war, daß auch für das Auftreten der Parthenogenese Außenbedingungen verantwortlich zu machen seien, so vermochte doch auch JOLLOS nicht, die Bedingungen so zu gestalten, daß die Parthenogenese völlig vermieden werden konnte. Es scheint, daß es bei den Infusorienkulturen technisch überhaupt nicht möglich ist, in kontrollierbaren Zählkulturen alle schädigenden äußeren Einflüsse auszuschalten. Denn wählt man die Gefäße nur so groß, daß eben einzelne Individuen noch verfolgt werden können, dann sind die Schädigungen auf die Dauer unvermeidlich. Nimmt man aber größere Gefäße, in denen die Schädigungen eventuell vermieden und die Parthenogenese eventuell ausgeschlossen werden könnte, dann ist technisch eine Kontrolle der einzelnen Individuen nicht mehr möglich, so daß der Einwand bestehen bleibt, einzelne Parthenogenesen seien unbeobachtet geblieben.

Aber selbst wenn bei Infusorien die Parthenogenese nicht vermeidbar wäre — was aber durchaus nicht bewiesen ist — so würde dieses Resultat keine entscheidende Antwort auf unsere Fragestellung bedeuten; denn an Infusorien ist diese Frage streng genommen, überhaupt nicht lösbar wegen der Verquickung des Befruchtungs-

<sup>1)</sup> Auch Young (1916) kam zu ähnlichen Resultaten wie JOLLOS.

vorganges mit der Neubildung des Macronucleus, also zweier ganz verschiedener biologischer Vorgänge. Das hatte BÜTSCHLI (1887/89 S. 1641) bereits gesehen. Um die Frage nach der Natur der Übelstände, welche sich nach seiner Überzeugung auf Grund der damals vorliegenden Versuche von ihm und MAUPAS im Leben der Infusorien allmählich einstellen und durch Conjugation beseitigt werden, aufzuklären, hatte er 1882 angenommen, daß der Macronucleus der Infusorien wie die Gewebszellen der Heteroplastiden allmählich verbraucht würde (Soma) und nur die Geschlechtszellen und der Micronucleus das Regenerationsvermögen für den verbrauchten Stoff besäßen, wogegen den übrigen Einzelligen allgemein dieses Vermögen zukomme. In seinem Protozoenwerk (1889) sah er jedoch, die Schwierigkeit, die für diese Hypothese darin liegt, daß sie die einfache Copulation zweier anscheinend gleicher Einzelligen nicht erklärt. „Denn da sie voraussetzt, daß die betreffenden Kerne einen bestimmten Stoff zu regenerieren vermögen, so ist nicht einzusehen, warum eine Copulation auftritt. Ebenso ist nicht zu begreifen, weshalb die Infusorien conjugieren, da ja der Ersatz ihres Macronucleus durch den regenerationsfähigen Micronucleus auch ohne Conjugation geschehen könnte.“ BÜTSCHLI hat also bereits 1889 die Regeneration des Macronucleus theoretisch für möglich gehalten, die 1914 durch WOODRUFF und ERDMANN dann nachgewiesen worden ist. Und er hat zugleich damit gesehen, daß seine Verjüngungshypothese, die sich nur auf Infusorienversuche stützte, keine allgemeine Befruchtungshypothese sein könnte. Auch JOLLOS (1917) hat sich in diesem Sinne ausgesprochen, daß die Notwendigkeit der Parthenogenese, die er nach seinen Versuchen annimmt, nur beweisen würde, daß der Macronucleus, also somatische Teile im Sinne WEISMANNs, absterben und erneuert werden müssen. „Bei der Infusorienzelle ist eben die hier formulierte scharfe physiologische Fragestellung wegen der Verquickung der Befruchtung mit der Neubildung des Somakerns überhaupt nicht lösbar“ (HARTMANN, 1917).

Wir wenden uns nun zu den Versuchen an Algen, Pilzen und Myxomyceten, die vor allen Dingen KLEBS (1896, 1900, 1917) ausgeführt hat. KLEBS war der erste Forscher, der an jahrelang durchgeführten Versuchen an diesen Organismen zu dem Resultat gekommen war, daß, „solange die Bedingungen für das Wachstum günstig sind, keine Änderung der Entwicklung eintritt“. (KLEBS 1900, S. 1.) So hat er eine *Saprolegnia* kontinuierlich 6 Jahre wachsen lassen, ein Plasmodium von *Didymium*

3 Jahre. Gegen die Versuche an diesen Organismen kann nun der Einwand erhoben werden, daß hier eine genaue Kontrolle des Wachstums und der Zellteilung nicht durchgeführt wurde, und bei diesen Organismen wohl überhaupt nicht durchführbar ist. Denn die von KLEBS verwendeten Algen und Pilze waren durchweg sog. „offene Systeme“ (DRIESCH), bei denen Wachstum und Zellteilung (also Fortpflanzung) nicht streng geschieden ist, sondern ineinander übergeht. Schwankungen im Wachstum und im Teilungsrhythmus, die mit allerhand Zellregulationen verbunden sein könnten, könnten daher hier überhaupt nicht oder nur sehr schwer beobachtet werden. Wenn dieser Einwand nach meinen Erfahrungen an *Eudorina* sowie denen von KLEBS über das außerordentlich gleichmäßige Wachstum der verwandten Organismen auch höchst unwahrscheinlich ist, so läßt er sich doch nicht widerlegen. Die genannten Protisten sind eben, wie die Infusorien, wenn auch aus ganz anderen Gründen, zur Lösung der vorliegenden Probleme nicht ohne weiteres tauglich.

Ganz neuerdings glaubt nun JAHN (1920) bei Plasmodien von *Badhamia utricularis* BEBK. im Gegensatz von KLEBS bei *Didymium* ein „Altern“, das schließlich in Absterben endet, festgestellt zu haben. So interessant die von JAHN hierbei gemachten Beobachtungen über den Zusammenhang zwischen der Dauer des aktiven Lebens des Plasmodiums und des latenten Lebens bei der Sklerotienbildung auch sind, so können die JAHN'schen Versuche zur Beantwortung des scharf formulierten, speziellen, physiologischen Problems nicht herangezogen werden; denn seine Versuchsanordnungen geben keine Gewähr dafür, daß hierbei wirklich die Außenbedingungen des Wachstums die gleichen blieben und er gibt auch selbst an, daß keines seiner Plasmodien tatsächlich an Marasmus senilis zugrunde gegangen sei, da sie alle meist vorher infolge eines Versehens in der Haltung oder Fütterung gestorben seien. Außer der wechselnden Temperatur und Feuchtigkeit brachte bei seinen Kulturen vor allem der Wechsel der Nahrung — er fütterte mit Pilzstückchen von verschiedenen Pilzen — einen außerordentlich unsicheren Faktor in die Kulturbedingungen, so daß sich der Einwand, daß allerhand schädliche Außenbedingungen sich nach und nach bei seinen Zuchten summierten, keineswegs ausschließen läßt. Dazu kommen noch die großen Schwierigkeiten, die das fortdauernde Wachstum der Plasmodien als offene Systeme für die Beurteilung bieten. Das dauernde Wachstum und die beständige Vergrößerung des in Zusammenhang bleibenden Plasmodiums verwischt nämlich gerade bei Myxomyceten in viel höherem Grade als bei Fadenalgen und Saprolegnien den Unterschied zwischen

Wachstum und Fortpflanzung (der 2. Akt der Fortpflanzung, die Zellteilung unterbleibt vollständig); und es ist daher schwer, ein sicheres Kriterium für die Beurteilung zu gewinnen, ob nicht das Unterbleiben der Zellteilung für das Altern des Systems verantwortlich zu machen sei. Damit läge aber ein ganz anderes Problem vor, als das hier zur Diskussion stehende. Zum mindesten müßte eine Methode zur Weiterführung der Plasmodien zur Anwendung gelangen, bei der stets gleich große Plasmodienstückchen von gleich großen Eltern weiter geimpft werden, wobei vorher noch zu ermitteln wäre, wie groß das Plasmodium werden darf, damit nicht durch Summierung von kleinen Schädlichkeiten dauernde schädigende Nachwirkungen entstehen, die durch Isolierung kleinerer Teile nicht mehr eliminiert werden können. Wie ersichtlich, liegen bei den Myxomyceten die Bedingungen für eine exakte Behandlung des Problems besonders ungünstig, so daß speziell negativen Ergebnissen bei diesen Organismen zunächst keine allgemeine Bedeutung zugesprochen werden kann.

Es bleiben nun nur noch die Versuche von ERDMANN (1910) an *Amoeba diploidea*. Hier wurde die Befruchtung verhindert, indem die Amöben vor der Copulation auf neue Agarnährböden geimpft wurden. Die ein Jahr lang in dieser Weise asexuell aufgezogenen Amöben verloren die Fähigkeit zur Copulation unter den sonst dazu führenden Bedingungen.<sup>1)</sup> Da sie sich aber auch nicht einzeln encystieren konnten, konnte der Stamm nur künstlich weiter erhalten werden durch dauernde Weiterzüchtung auf frischen Nährböden, was jedoch keine Sondererscheinung der *A. diploidea* darstellt, sondern selbstverständlich ebenso bei *Eudorina*, nicht conjugierenden Infusorien usw. der Fall ist. ERDMANN hat daraus geschlossen, zumal da in den apogamen Kulturen scheinbar leichter Schädigungen eintraten, daß der Befruchtung eine verjüngende Wirkung zukäme. Da jedoch die Lebensdauer einer apogamen Kulturfolge der der normalen Kulturen gleich war, so kann in diesen Versuchen mit gleichem oder mehr Recht eine positive Beantwortung unserer physiologischen Fragestellung erblickt werden. Allerdings könnte auch hier der Einwand erhoben werden, daß Regulationen unbeobachtet geblieben sind, da eine genaue Beobachtung und kontrollierte Zählkultur bei dieser Amöbe nicht möglich ist resp. nicht durchgeführt wurde. Das ständige Vorhandensein der beiden gekoppelten Kerne bei dieser Amöbe auch in den agamen Kulturen macht allerdings eine solche

---

<sup>1)</sup> Dasselbe war bei unseren agamen *Eudorina*-Kulturen nach viel kürzerer Zeit eingetreten.

Annahme von vornherein sehr unwahrscheinlich. Immerhin müssen bis zur Wiederholung dieser Versuche unter allen erforderlichen Vorsichtsmaßregeln auch diese Versuche an *Amoeba diploidea* vorderhand für die exakte Beantwortung unserer Frage ausschalten.

Damit sind die Versuche an verschiedenen Formen, die direkt auf unser Problem sich beziehen, erschöpft. Daß nicht die seit vielen Jahren in vielen Laboratorien immer weiter gezüchteten Rassen von pathogenen Trypanosomen zur Beantwortung dieser Frage herangezogen werden können, wie das DOFLEIN (1913, 1919) tut, ist bei genauerem Zusehen klar. Denn wenn auch keine Degenerationen der Stämme beobachtet wurden, und keine geschlechtlichen Prozesse auftraten, so finden sich doch sowohl bei Weiterzucht im Tierkörper wie in künstlichen Kulturen, wie jeder, der sich damit eingehender befaßt hat, weiß, so viele morphologische und physiologische Veränderungen an diesen Trypanosomen (Zwergformen, geisellose Formen, auch Verschmelzung von Kern und Blepharoplast sind beschrieben worden), daß bei der Unmöglichkeit einer exakten Kontrolle die Trypanosomen für die Lösung dieses Problems völlig ausschalten. Ähnliches gilt für die Zuchten von Vahlkampfen, Thecamöben (*Clamydophrys*) und Flagellaten (*Polytomella*), die DOFLEIN (1919) gleichfalls anführt und scheinbar in eine Reihe mit unseren *Eudorina*-Zuchten stellt. Wenn derartig unkontrollierte und meist unkontrollierbare Zuchten etwas beweisen würden, dann hätte ich die mühsamen Zählkulturen unter konstanten Außenbedingungen an *Eudorina* nicht durchzuführen brauchen, und ebensowenig WOODRUFF seine Paramäcienkulturen. In unserem Institut wurden nämlich Vahlkampfia- und Clamydophrysarten sowie Flagellaten (*Scytomonas*, *Polytoma*, *Chlorogonium* und *Gonium*) nicht nur monatelang, sondern viele Jahre lang teilweise seit 1906 gezüchtet. Ich gebe gerne zu, daß besonders Kulturen von manchen Flagellaten, wie *Polytoma* usw. mit einer gewissen Wahrscheinlichkeit für die Möglichkeit der Dauer der agamen Zuchten sprechen, doch liegt bei all diesen Zuchten kein exakter Versuch, keine genaue Kontrolle vor, und bei den Vahlkampfen ist nicht einmal die Encystierung ausgeschaltet, deren ev. verjüngende Wirkung doch auch erst noch untersucht werden müßte.

Da die Infusorien aus den oben genauer ausgeführten Gründen für unser Problem ausscheiden, und den Versuchen an allen übrigen Formen gleichfalls keine zwingende Beweiskraft zugesprochen werden kann, so bleiben somit nur die *Eudorina*-Zuchten für eine exakte Beantwortung des hier zur Diskussion stehenden physiologischen Problems übrig. Wie im speziellen

Teil eingehend begründet, glaube ich, daß in der Tat diese Zuchten, so wohl was die biologischen Verhältnisse des Objekts, wie die Methoden der Kultur und der Kontrolle anlangt, völlig genügen, um die hier behandelte Frage im bejahenden Sinne eindeutig zu beantworten.

Nur auf einen Einwand muß noch kurz eingegangen werden, der die Bedeutung dieses positiven Versuchsergebnisses einschränken würde. GOLDSCHMIDT (1920) wies nämlich darauf hin, daß *Eudorina* ein grüner Organismus mit pflanzlicher Ernährungsweise sei, von dem nicht auf tierische Organismen geschlossen werden sollte. Meiner Meinung nach kann nun bei einem so allgemein biologischen Problem, wie die Notwendigkeit der Befruchtung oder ihr Ersatz durch einen anderen sexuellen Prozeß, dem Unterschied zwischen tierischem und pflanzlichem Stoffwechsel keine besondere Bedeutung zugemessen werden. War doch die ganze wissenschaftliche Biologie seit Jahrzehnten mit größtem Erfolg bestrebt, in der Organisation und Funktion der Zelle, in den Fortpflanzungs- und Befruchtungsvorgängen, wie in den Vererbungserscheinungen, kurz in allen allgemeinen biologischen Prozessen, die völlige Übereinstimmung und die Einheit zwischen tierischem und pflanzlichem Geschehen aufzuweisen. Wollte man nun in der Frage nach den letzten Ursachen und nach der Bedeutung der Befruchtung oder Sexualität wieder einen Gegensatz annehmen, so hieße das doch, die so mühsam errungene Auffassung prinzipieller Einheit pflanzlichen und tierischen Lebens an einem Kardinalpunkt wieder aufgeben. Wenn dem verschiedenen Stoffwechsel bei Tieren und Pflanzen für derartige biologische Vorgänge ein Einfluß zukäme, so wäre in keiner Weise einzusehen, warum derselbe sich nur bei dem kausalen Zustandekommen der Befruchtung oder Sexualität äußern sollte, nicht aber auch bei anderen Zellvorgängen, wie der Mitose und dem ganzen Befruchtungsverlauf mit seinen Feinheiten, wie Synapsis, Reduktion, Caryogamie usw.<sup>1)</sup> Immerhin sind, um auch diese Einschränkungen noch zu beseitigen, in unserem Institut nun

---

<sup>1)</sup> Die Gedankengänge, in deren Verlauf GOLDSCHMIDT die obige Meinung aussprach, zielen übrigens, wie noch bei der Besprechung des Todproblems zu zeigen sein wird, auf ein ganz anderes Problem ab, wobei ich sachlich mit GOLDSCHMIDT weitgehend übereinstimme. GOLDSCHMIDT hätte nur das Zusammenbringen der betr. Frage mit der Befruchtung und die Bezeichnung Sexualität vermeiden sollen, da es sich dabei nur um Kernregulationen zur Beseitigung somatischen Kernmaterials handelt, die mit Befruchtung und Sexualität nichts zu tun haben oder erst sekundär damit verknüpft worden sind.

auch ähnliche Versuche wie bei *Eudorina*, d. h. Versuche, die nach Objekt wie Methode eine exakte Beantwortung ermöglichen, bei tierischen Protisten in Angriff genommen worden und zwar von Herrn Dr. BĚLAŠ an *Actinophrys sol* und von mir an *Amoeba diploidea*. Ich zweifle heute schon nicht mehr, daß sie das gleiche positive Resultat liefern werden.

## 2. Das Befruchtungsproblem.

Die *Eudorina*-Versuche berechtigen wohl zu dem Schlusse, daß die Befruchtungsbedürftigkeit keine absolut notwendige Lebensäußerung ist; denn sie haben ja eingehend gezeigt, daß die Befruchtung jahrelang ohne irgendwelche Schädigung ausfallen kann, ohne daß außer der gewöhnlichen Kern- und Zellteilung eine sonstige Zell- und Kernregulation, wie etwa die Parthenogenese, stattfindet. Ich hatte nun früher hieraus geschlossen, daß damit allen Verjüngungshypothesen der Befruchtung, auch der von RICHARD HERTWIG auf die Kernplasmarelation begründeten Regulationshypothese, der Boden entzogen sei. Dieser Schluß war etwas zu weitgehend; denn es ist sehr wohl denkbar, daß die Befruchtung unter gleichbleibenden Außenbedingungen zwar schadlos ohne Abnahme der Lebensenergie der Generationen unterbleiben kann, daß aber trotzdem, wenn die physiologischen Bedingungen der Befruchtung eingetreten sind, ein Ablauf der Befruchtung für den Organismus eine Art Verjüngung oder Regulation des ganzen Zellmechanismus bedeuten könne. Allerdings wäre das dann keine spezifische Wirkung der Befruchtung. Denn auch anderen Vorgängen in der Biologie der Protisten, z. B. der Encystierung, könnte eine derartige Wirkung zukommen. Solche Gedanken haben in der Tat für die letzteren Prozesse bereits GOETTE (1883) und R. HERTWIG ausgesprochen und die Erfahrungen von JAHN (1920) über Altern und Verjüngung von Plasmodien nicht nur durch Befruchtung, sondern auch durch Sklerotienbildung, also eine Art Encystierung, ließen sich hierfür gleichfalls mit Recht anführen.

JAHN hat nämlich festgestellt, daß seine gealterten Plasmodien, die er zur Sklerotiumbildung brachte, nach Erweckung der Sklerotien in kurzer Zeit wieder ihre volle Lebensenergie erhielten. Diese Erfahrungen von JAHN sind von hohem Interesse und machen es sehr wünschenswert, an ganz exakt durchgeführten Versuchen an Myxomyceten oder anderen Protisten, die neben Befruchtung noch andere Ruheformen aufweisen, die physiologische Bedeutung wie die

Wirkung dieser Ruhebildungen neben Fortpflanzung und Befruchtung genau zu untersuchen. Voraussetzung ist, daß aber auch bei solchen Versuchen eine genauere und exaktere Kulturmethode als die von JAHN benutzte zur Anwendung gelangt. Außerdem müßte auch hierbei der Nachteil und die Fehlerquelle, die in dem uneingeschränkten Wachstum des Plasmodiums liegt, durch eine regelmäßige Methode der Abteilung kleiner, gleich großer Teile ausgeschaltet werden. Doch wie die Ergebnisse solcher Versuche auch ausfallen mögen, soviel ist sicher, daß auch dann, wenn sich eine verjüngende Wirkung der Befruchtung aufzeigen ließe, die Befruchtung nach wie vor sowohl physiologisch wie biologisch völlig unerklärt bliebe, da ja nur ein mit ihr verbundener Teilvorgang, der auch bei anderen biologischen Prozessen in ähnlicher Weise sich findet, nachgewiesen wäre.

Ähnliches zeigen die Versuche von JOLLOS (1920) über Dauermodifikationen bei Infusorien, die in mancher Hinsicht als Analogie zu diesen Verhältnissen herangezogen werden können. Nach diesen Versuchen werden nämlich sowohl durch einfache Zellteilung wie durch Parthenogenese und durch Conjugation die den Paramäcien aufgeprägten Dauermodifikationen wieder rückgängig gemacht, nur in sehr verschiedenem Maße, indem ein oder zwei Conjugationen zur Beseitigung der Dauermodifikationen der ganzen Zelle genügen, während hierzu 3—4 Parthenogenesen und Hunderte von Zellteilungen notwendig sind. Diese Umregulierungen der Zelle, durch die die Dauermodifikationen wieder rückgebildet werden, können in gewissem Sinne den etwaigen Verjüngungsvorgängen zur Seite gestellt werden, da ja in beiden Fällen ein früherer Zellzustand durch die Regulierung wieder hergestellt ist. Sie lehren aber ebenfalls deutlich, daß Umregulierung und Verjüngung nicht nur durch Befruchtung, sondern auch durch andere Vorgänge bei den Protisten erzielt werden.

Andererseits liegen Erfahrungen an Infusorien vor, die direkt gegen eine solche verjüngende Wirkung der Befruchtung angeführt werden können. So hatte bekanntlich RICHARD HERTWIG schon 1889 gezeigt, daß Paramäcien, die man bei Beginn der Conjugation künstlich trennte und weiter züchtete, gegen die Erwartung kräftiger wuchsen und sogar schneller sich vermehrten, als die Kontrolltiere, welche die Conjugation normal durchgemacht hatten. Und später hat JENNINGS (1913) durch Versuche nachgewiesen, daß Paramäcien derselben Rasse und Herkunft, die die Conjugation normal durchgeführt haben, gegenüber solchen, die sofort bei ihrer Vereinigung



getrennt wurden, sogar eine größere Mortalität und geringe Teilfähigkeit aufwiesen. Von einer verjüngenden Wirkung der Conjugation kann auf Grund dieser Versuche nicht die Rede sein. Zum mindesten scheint daraus hervorzugehen, — die neueren Erfahrungen über die Parthenogenese bei Paramäcien bekräftigen dies, — daß, wenn solche Wirkungen überhaupt mit der Conjugation verbunden sind, sie auf Rechnung der hierbei stattfindenden Neubildung des Macronucleus zu schreiben sind. Aller Wahrscheinlichkeit nach dürfte eine solche Parthenogenese auch in den angeführten Versuchen von R. HERTWIG bei den künstlich an der Conjugation verhinderten Paramäcien stattgefunden haben.

Auf jeden Fall lassen alle diese Verjüngungslehren, mögen sie im einzelnen aufgeklärt werden wie sie wollen, Ursache und Bedeutung der Befruchtung völlig unerklärt und die Lösung des Befruchtungsproblems muß daher in anderer Richtung gesucht werden. Der vorderhand einzig gangbare Weg scheint mir, da ja die Amphimixislehre, wie schon mehrfach gezeigt wurde, überhaupt keine Befruchtungs-, sondern eine Vererbungstheorie darstellt, in der BÜTSCHLI-SCHAUDINN'schen Sexualitätshypothese zu liegen.

Da ich an anderen Stellen (1909, 1917) mehrfach über diese Hypothese mich geäußert habe und die vorliegende Arbeit zu dieser Frage kein neues Material beibringt, so soll an dieser Stelle unter Hinweis auf den letzten zusammenfassenden Bericht in den „Naturwissenschaften“ (1918) nicht näher darauf eingegangen werden.<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> Anhangsweise sei hier aber doch auf einige neuere Beobachtungen und Versuche hingewiesen, die sehr zugunsten der Sexualitätshypothese sprechen. So konnte Dr. BÉLAŠ in unserem Institut nachweisen, daß bei *Actinophrys sol*, einem Paradeobjekt isogamer Befruchtung bei Protozoen eine deutliche physiologische Anisogamie vorliegt, indem von den kopulierenden reifen Gameten (Sekundärceysten) einer nach Art der *Spirogyra*-Gameten in den anderen hinüberwandert. Das Verhalten ist um so bemerkenswerter, als die Gameten von *Actinophrys* direkte Schwesterzellen sind (Paedogamie), wobei allerdings zwischen die Zellteilung und die Copulation die Reduktionsteilungen eingeschaltet sind. Dieser Fund spricht sehr zugunsten einer sexuellen Verschiedenheit auch bei morphologischer Isogamie und es ist wohl zu erwarten, daß bei genauerem Studium die Fälle von reiner Isogamie schließlich alle verschwinden werden.

Von besonderem Interesse sind ferner Versuche von KNIEP und BURGER bei Pilzen. So fand KNIEP bei isogamen Brandpilzen (*Ustilago violacea*) ähnlich wie bei *Phycomyces* deutlich differenzierte Plus(+) und Minus(-)-Mycelien und Gameten und konnte es wahrscheinlich machen, daß hier (ebenfalls wie bei *Phycomyces*) die Geschlechtsverteilung an die Reduktionsteilung gebunden ist. Bei dem Basidiomyceten *Schizophyllum* dagegen ergaben die KNIEP'schen Versuche (1919), daß nicht nur zwei, sondern mehrere sexuell verschiedene Mycelien vorhanden sind. KNIEP, mit dem ich in der Beurteilung der Sexualitätsfrage sonst weitgehend über-

### 3. Das Todproblem.

Wie eingangs erwähnt, ist unsere Problemstellung seit den Tagen WEISMANN's mit dem Todproblem bei den Protisten in Zusammenhang gebracht worden. Daß das logisch nicht so ohne weiteres angängig ist, wurde oben schon gezeigt. In diesem Kapitel soll es nun unsere Aufgabe sein, das Todproblem selbst und seinen Zusammenhang mit unserer Fragestellung sowie mit anderen Problemen des Alterns und der Verjüngung der lebenden Substanz in sachlicher und logischer Beziehung kritisch zu betrachten.

Wenn wir uns an das halten, was WEISMANN, abgesehen von formalistischen Prägungen und teleologischem Beiwerk bei seiner sog. Unsterblichkeitslehre der Protisten zunächst sachlich im Auge hatte, daß nämlich „der Kreislauf ihres Lebens, Teilung, Wachstum durch Assimilation und wiederum Teilung niemals endet“, so ist ohne weiteres klar, daß durch die *Eudorina*-Versuche diese Lehre rein sachlich für solche Protisten wie *Eudorina*, die keine besonderen Somakerne besitzen, als erwiesen gelten kann. Wohl ist durch diese Versuche festgestellt, daß es ein Altern von Generationen bei Protisten nicht zu geben braucht, aber diese Möglichkeit des Fehlens

einstimme, glaubt diesen Fall mit der Annahme erklären zu können, daß diese sexuell verschiedenen Mycelien sich durch mehrere Erbfaktoren, Gene, unterscheiden, die Sexualität mithin eine Eigenschaft sei, die durch eine Reihe von Genen bedingt sei. Auf diese Weise glaubt KNIPE auch die Amphimixislehre WEISMANN's als Erklärung für das Zustandekommen und die Bedeutung der Befruchtung bei diesen Formen in Anspruch nehmen zu können. Die Deutung von KNIPE scheint mir jedoch einer Übertreibung der formalistisch-mendelistischen Betrachtungsweise entsprungen zu sein (— nur bei Annahme von selbststerilen Individualstoffen im Sinne von CORRENS wäre eine rein mendelistische Erklärung hier berechtigt —), und die Erscheinungen lassen sich wohl weit ungezwungener durch Annahme einer relativen Sexualität (HARTMANN 1909 u. 1917), also gewissermaßen durch quantitative Unterschiede in dem Verhalten der weiblichen und männlichen Potenzen bei den betreffenden Mycelien erklären. Diese Auffassung wird auch durch die Arbeit von BURGER (1919) über die Sexualität bei der Mucorinee *Cunninghamella bertholletiae* bekräftigt, ja geradezu bewiesen. BURGER konnte bei dieser Mucorinee unter 26 untersuchten Mycelien mindestens 6 verschiedene sexuelle Typen nachweisen. Darunter sind solche, die miteinander Zygoten bilden, also nach der gebräuchlichen Bezeichnung entgegengesetzten (+ u. —) Sexualcharakter haben, dagegen sich gegenüber einem 3. Mycel beide indifferent verhalten, während sie wiederum mit einem 4. Mycel beide Zygoten ergeben, also sexuell gleich verhalten. Besonders bemerkenswert sind auch seine Resultate bei Kreuzungen mit Mycelien der streng diöcischen Art *Cunninghamella elegans*. So reagiert z. B. das Plus-Mycel von *Cunninghamella elegans* mit Mycel 3, 8, 12, 18, 21, 24, 25, 26 positiv, d. h. es bildet Zygoten, Würde sich *Cunninghamella bertholletiae* so verhalten, wie die gewöhnlichen heterothallischen Mucorineen, so

von Alterserscheinungen bei Generationen als Unsterblichkeit zu bezeichnen, scheint mir eine wissenschaftlich unzulässige, weil zweideutige Begriffsbildung, die nur zu leicht auch zur Begriffsverwirrung führt. Zu einer solchen Bezeichnung liegt auch nicht das geringste Bedürfnis vor. Ist diese Möglichkeit doch einfach der Ausdruck der Kontinuität des an individualisierte Systeme gebundenen Lebens und beweist nur, daß die Befruchtung für das Leben keine Notwendigkeit ist, ihre Bedeutung daher nicht in einer Verjüngung besteht. Einen Tod kann es nach dem Sinn, der diesem Begriff innewohnt, nur bei Individuen geben, sein Begriff ist völlig an den des Individuums gebunden. Daher besteht auch für die meisten Pflanzen die große, ja unüberwindliche Schwierigkeit, den Begriff „Tod“ auf die dort waltenden Verhältnisse zu übertragen. Verflüchtigt sich doch hier vielfach der Begriff des Individuums vollkommen, weil die Pflanzen größtenteils offene biologische Systeme sind. (S. hierzu auch FRITSCH 1920.) Nur wo uns die Organismen wie bei den meisten Protozoen und Metazoen als geschlossene Systeme im Sinne von DRIESCH entgegentreten, besitzt der Begriff des Individuums seine wahre, unzweideutige Geltung; nur hier hat die Frage nach dem Tod oder der Unsterblichkeit einen Sinn.

würden die letzteren Kulturen alle als Minus-Kulturen anzusprechen sein. Nun reagiert aber z. B. 3 mit 21 positiv, andererseits reagiert 9 mit 3, außerdem aber mit 4, 5, 6, die sich doch entgegengesetzt verhalten sollten wie 3. BURGER nennt derartige Formen, wie Mycel 3, hermaphroditisch; man kommt aber mit der Annahme von nur 3 Mycelien: plus, minus und hermaphroditisch nicht aus, wie auch KNIEP in seinem Referat hervorhebt. Dagegen scheint mir die Andeutung von BURGER in der Einleitung, daß die Geschlechtsverschiedenheiten wohl eher auf quantitativen als auf qualitativen Grundlagen beruhen, im Gegensatz zu der KNIEP'schen Auffassung, daß mehr als zwei hinsichtlich ihres sexuellen Verhaltens genotypisch verschiedene Formen vorliegen, den richtigen Kern für die Erklärung dieser Erscheinungen zu enthalten, nämlich die Annahme einer relativen Sexualität, in dem von mir schon mehrfach ausgeführten Sinne (s. besonders 1918 S. 369 u. 372). Nicht Gameten mit mehreren Genen für Weiblichkeit (—) oder für Männlichkeit (+) lägen danach hier vor, auch nicht nur 3 Arten von Mycelien, männliche, weibliche und hermaphrodite, sondern bisexuelle Zellen mit quantitativ verschiedener männlicher oder weiblicher Potenz, also prinzipiell dasselbe, was in durch die Metazoenverhältnisse komplizierterer Weise GOLDSCHMIDT bei seinen schönen Versuchen an intersexuellen Schmetterlingen ermittelt hat.

An Formen mit nur physiologischer Anisogamie, bei denen jedoch im Gegensatz zu diesen Pilzen das eine Geschlecht z. B. durch die Beweglichkeit dem andern gegenüber erkennbar ist (*Actinophrys sol*, *Spirogyra*, *Ectocarpus* usw.), müßte sich eine solche relative Sexualität, also Gameten mit quantitativ verschiedener Potenz direkt ad oculus demonstrieren und damit der endgültige Beweis für die Richtigkeit dieser Anschauung erbringen lassen.

Die nächstliegende Frage, die bei der Behandlung des Todproblems erhoben werden muß, hat daher zu lauten: Müssen Protozoenindividuen als geschlossene biologische Systeme altern und sterben?

Daß die vielzelligen Tiere als Individuen altern und sterben, ist eine wohl unbestrittene Tatsache. Nur die Keimzellen leben weiter und erhalten die Kontinuität der Art. Der Körper, das Soma geht früher oder später zugrunde, er stirbt, wird zur Leiche. WEISMANN hat das Auftreten einer Leiche, bei den Metazoen natürlich die auffallendste Erscheinung beim Tode, als das Kriterium eines natürlichen physiologischen Todes angesprochen und das Vorkommen einer Leiche bei den Protozoen und damit das Vorkommen des physiologischen Todes bei denselben in Abrede gestellt.

Ohne zunächst die Berechtigung des Kriteriums der Leiche für den physiologischen Tod in Zweifel zu ziehen, muß dagegen betont werden, daß die neuere Protistenforschung auch bei den Protozoen im Zusammenhang mit den Fortpflanzungsvorgängen Leichenteile ja direkt Leichen, die den Formwert von Zellen besitzen, kennen gelehrt hat. In Weiterführung eines Gedankens von GOETTE habe ich ferner schon früher (1905) im Zusammenhang damit nachgewiesen, daß bei allen Protozoen mit multipler Fortpflanzung der natürliche physiologische Individualtod mit der Fortpflanzung zusammenfällt. Am auffälligsten ist das bei der Fortpflanzung von großen polyenergiden Formen mit sog. Zerfallsteilung. So kann es wohl keinem Zweifel unterliegen, daß die großen polyenergiden Radiolarien wie *Thallassicola*, *Thallassophysa* und *Aulacantha* bei ihrer Fortpflanzung, der ungeschlechtlichen durch Agameten (Isosporen) wie der geschlechtlichen durch Anisogameten, sterben. Diese schönen Tiere sind als spezifische Arten charakterisiert durch eine hochkomplizierte Organisation, einen großen polyenergiden Kern, ein besonders gebautes Entoplasma, eine Zentralkapsel, extrakapsuläres Plasma mit spezifischen Reservestoffsubstanzen, bestimmte Kieselskelete usw. Diese ganze wunderbare Organisation wird bei der Fortpflanzung zerstört und geht zugrunde, das Individuum stirbt, wobei große Körperteile, das ganze extrakapsuläre Plasma mit allen spezifischen Bildungen, die Zentralkapsel und selbst ein großer Teil des Entoplasmas mit einer größeren oder geringeren Anzahl von Kernen zur Leiche werden (BRANDT, BORGERT, HARTMANN und HAMMER, HUTH). Diese Radiolarien müssen zwangsläufig bei ihrer Fortpflanzung eines natürlichen Todes sterben, wenn auch bei dem Zerfall in die Tausende von monoenergiden Fortpflanzungszellen selbstverständlich die Kontinuität ihrer spezifischen Struktur,

wenn man so will, die Unsterblichkeit des Keimplasmas gewahrt bleibt. Ein derartiger Individualtod, der bei den eben geschilderten Radiolarien in so besonders sinnfälliger Weise mit direkt dem Metazoenkörper vergleichbarer Leiche in Erscheinung tritt, findet sich aber bei allen Protisten mit multipler Teilung, gleichgültig, ob der vegetative, den Typus der Art repräsentierende Körper schon polyenergisch ist, oder ob er einen einwertigen Kern besitzt, und erst bei der Fortpflanzung polyenergisch wird. So ist es nicht nur bei Radiolarien, sondern auch bei Foraminiferen, Myxomyceten, Myxosporidien, Gregarinen, Coccidien usw., worauf ich hier jedoch nicht näher einzugehen brauche unter Hinweis auf meine frühere Arbeit (HARTMANN, 1905). Was bei der multiplen Fortpflanzung dieser Formen wechselt, ist der Umfang resp. das Vorhandensein oder Fehlen einer Leiche (Restkörper). Es kommen alle Stufen vor von dem Vorhandensein einer „echten“ direkt den Formwert von Zellen besitzenden Leiche (Radiolarien, Foraminiferen, Myxosporidien, Gregarinen) über kernlose sog. Restkörper bis zu einfachen Einschmelzungen von Organellen. Was aber all diesen Formen auch beim Fehlen einer Leiche gemeinsam ist, das ist der scharfe Abschluß einer individuellen Entwicklung, der mit der Fortpflanzung zusammenfällt und der Beginn einer neuen Entwicklung, der mit diesem Prozeß einsetzt. Alle diese Protisten mit multipler Vermehrung müssen bei der Fortpflanzung zwangsläufig ihre Organisation als typische Individuen aufgeben und eine neue typische Individualentwicklung beginnen. Das ist aber nichts anderes als ein Individualtod.

Wenn somit für die Protozoen mit multipler Fortpflanzung, bei denen stets ein auffälliger Abschluß einer individuellen Entwicklung zutage tritt, ein physiologischer Tod angenommen werden muß — selbst strenge Anhänger der WEISMANN'schen Unsterblichkeitslehre, wie JOLLOS und SCHLEIP geben das bis zu einem gewissen Grade zu —, so fragt es sich doch, inwieweit das für jene Protozoen gilt, die sich nur durch einfache Zweiteilung vermehren, Formen, an die bekanntlich WEISMANN allein bei Aufstellung seiner Lehre gedacht hat. Da zwischen multipler Fortpflanzung und Zweiteilung kein prinzipieller Unterschied besteht — erstere ist ja nur die Zusammendrängung mehrerer Zweiteilungen auf einen Zeitpunkt —, da ferner auch bei letzterer eine individuelle Entwicklung, die ja zum Wesen jeden organischen Systemes gehört, zum Abschluß gelangt, so läßt sich natürlich unsere obige Betrachtungsweise ohne weiteres auch auf die Protisten mit Zweiteilung übertragen. So endet z. B. auch jede Flagellatenzelle bei der Zweiteilung als Individuum, und

wenn auch oft dabei keine Organellen zur Leiche werden, so werden doch stets neue Organellen gebildet. Das Soma wird nicht zur Leiche, sondern von den Tochterindividuen übernommen.

Eine größere Unsicherheit besteht natürlich bei den einfachsten sich durch Zweiteilung vermehrenden Protisten ohne besondere Organellen, wie Amöben, Cyanophyceen und Bakterien. Hier erscheint es in der Tat vielleicht als Geschmacksache, ja als willkürliche Umprägung des Todbegriffes, den Vermehrungsvorgang durch Zweiteilung mit dem Tode zu identifizieren. Man könnte ja mit demselben Recht den hier vorliegenden Tatbestand etwa so ausdrücken, der Tod habe sich allmählich durch Summierung somatischer, zur Leiche werdender Zellelemente auf den Punkt der Fortpflanzung im Laufe der Protozoenphylogenie entwickelt. Das ist etwa der Standpunkt, den SCHLEIP vertritt. Aber abgesehen davon, daß die gleiche Schwierigkeit auch bei den sich vegetativ vermehrenden vielzelligen Organismen wie Hydren, Turbellarien usw. vorliegt, denen doch kaum jemand ein Altern und einen physiologischen Tod abspricht <sup>1)</sup>, wird durch eine derartige Formulierung das tiefe physiologische Problem, das hier vorliegt, zu leicht verwischt und übersehen. Denn nicht der formale Nachweis eines physiologischen Todes ist das wesentliche physiologische Problem, sondern die Frage nach einem individuellen Altern.

Um nun nicht in bloßen Wortstreitigkeiten und Begriffspaltereien stecken zu bleiben, schien es mir vorteilhaft, zur Klärung der hier vorliegenden Probleme zunächst eine möglichst einfache physiologische Fragestellung zu suchen, die einer experimentellen Bearbeitung zugänglich ist, und ich habe dieselbe 1917 folgendermaßen definiert:

„Ist es möglich, geschlossene biologische Systeme dauernd in Assimilation und Wachstum zu erhalten ohne Alters- und Degenerationserscheinungen und ohne Reduktion des Systems durch Teilung oder sonstige

---

<sup>1)</sup> Bei den sich durch Teilung oder Knospung vermehrenden Metazoen kann natürlich die gleiche Problemstellung erhoben werden, wie sie in dieser Arbeit für Protisten behandelt wurde. Merkwürdigerweise sind in der bisherigen Literatur bei der Besprechung der sog. Unsterblichkeitslehre diese Metazoenteilungen kaum herangezogen und noch niemals experimentell nach dieser Richtung untersucht worden. Wir haben daher in unserem Institut derartige Versuche vor etwa einem Jahre begonnen und zwar Kollege Gross an Hydren und ich an *Stenostomum*. Beide Formen sind bisher ohne Schädigungen über 1 Jahr in Zählkulturen bei nur vegetativer Fortpflanzung gezüchtet und es scheint nach dem bisherigen Verlauf, daß auch hier die vegetative Vermehrung ohne Depression usw. ad infinitum unter geeigneten Bedingungen möglich ist.

Regulierung?“ Oder umgekehrt ausgedrückt: Sind mit der Assimilation und dem Wachstum auch bei Protisten, die sich nur durch Zweiteilung vermehren, nicht-umkehrbare Entwicklungsvorgänge, also ein Altern verbunden und bedeutet die Fortpflanzung, bzw. die Zellteilung bereits eine Verjüngung dieser Systeme. Daran hätte sich dann noch die andere Frage anzuschließen: Ist es möglich, diese verjüngende Wirkung der Fortpflanzung durch eine andere Regulation des Systems zu ersetzen und kommen natürlicherweise auch solche andere Regulationen vor?

Experimentelle Versuche zur Lösung der ersten Frage und ihrer Gegenfrage liegen bisher nur wenige vor. Über einen solchen derartigen Versuch habe ich 1905 S. 23 bereits kurz berichtet; derselbe scheint aber bisher ganz unbeachtet geblieben zu sein. Ich ging von dem Gedanken aus, daß man streng genommen von einer Unsterblichkeit bei einem biologischen System nur dann sprechen dürfe, wenn es möglich sei, an einem solchen System, also an einzelnen Protozoenindividuen, die Lebenserscheinungen (Assimilation und Wachstum) unter besonders günstigen äußeren Bedingungen ohne Teilung ad infinitum weiter ablaufen zu lassen. Man mußte also versuchen, bei einem Protozoen unter sonst optimalen Lebensbedingungen die Teilung zu unterdrücken, ohne Assimilation und Wachstum zu schädigen.

Das gelang 1904 mit der Volvocinee *Stephanosphaera pluvialis* durch Züchtung in starker KNOP'scher Nährlösung in sehr niederer Schicht. Auf diese Weise konnten gut doppelt so große Individuen gezüchtet werden, die jedoch, da sie ihre Teilungsfähigkeit eingebüßt hatten, schließlich stets zugrunde gingen. Da die Fortpflanzung bei weitergehendem Wachstum verhindert war, so führte das letztere, also der Lebensvorgang an sich, zum Untergang, dem aber nicht, wie beim gewöhnlichen Tode das Individuum, sondern auch die ganze Art verfallen müßte, falls die obigen Bedingungen allen Individuen der Art gegeben wären. Bei einer Wiederholung der Versuche mit derselben Form im Jahre 1916 gelangen sie leider nicht wieder. Doch gingen damals überhaupt die *Stephanosphaera*-Kulturen mit dem neuen Stamm nicht gut an und ich habe bisher noch keine neueren eingehenden Versuche mit dieser Form anstellen können. Dagegen konnten in den letzten Jahren mehrmals, aber auch nicht immer regelmäßig, ähnliche Resultate durch dieselben Mittel mit *Gonium pectorale* erzielt werden. Hier vollzog sich bei Hemmung der Teilung eine Weiterfunktion der Wachstumsvorgänge derart, daß Individuen von vierfacher Größe wie die nor-

malen erzielt wurden, die dann auch nach längerer Vegetation zugrunde gingen.<sup>1)</sup> Diese Versuche sprechen jedenfalls sehr eindringlich für ein mit dem Lebensprozeß verbundenes Altern der Zellindividuen.<sup>2)</sup>

Zu ganz ähnlichen Resultaten gelangte RUBNER bei Versuchen an Hefezellen, die dieser Forscher unter denselben theoretischen Gesichtspunkten angestellt hatte. Durch Vorversuche hat RUBNER zunächst festgestellt, daß es bei Hefezellen gelingt (durch Kultur in Rohruckerlösung), Wachstum und Vermehrung auszuschließen, ohne daß damit auch alle anderen Lebenseigenschaften wie z. B. die Gärung verloren zu gehen braucht. Durch Verabreichung kleiner, bestimmter Stickstoffmengen (Pepton) gelang es dann weiterhin RUBNER, die Hefezellen im Stickstoffgleichgewicht zu erhalten oder sogar zu Stickstoffansatz zu bringen, ohne daß sie sich teilen. Die Prüfung, wie lange die Hefezellen unter solchen Bedingungen ihre Lebensfunktionen, wie Gärkraft usw. auszuüben vermochten, ergab das Resultat, daß durch Stickstoffzusatz (Peptonzusatz) auf die Gärungsleistung der Hefe bei einem 8tägigen Versuche zwar ein günstigerer Einfluß gegenüber reiner Rohruckerkultur ausgeübt wurde, daß aber doch dadurch nicht der innere Zerfall der Hefe aufzuhalten möglich war. „Die Hefe, welche nicht wachsen kann (richtiger müßte es heißen sich nicht teilen kann, Zus. von mir), stirbt ab, hier rascher, dort langsamer; auch die Versorgung in einem eiweißhaltigen und zuckerhaltigen Nährmaterial rettet und erhält sie nicht auf die Dauer ... Ohne Wachstum (richtiger Teilung) ist sie zum Tode bestimmt.“ (RUBNER.)

Wenn wir die Tragweite dieser Versuche an Hefen und Volvocineen für unsere Fragestellung näher ins Auge fassen, so scheinen sie zunächst ohne weiteres zu lehren, daß die Protistenindividuen altern und daß, wenn die Fortpflanzung verhindert wird, nicht nur ein Partialtod, sondern geradezu der Arttod eintritt. Unsere obigen

<sup>1)</sup> In vielen Fällen kam dagegen zum Schluß des gesteigerten Wachstums der Goniumzellen die Teilung doch noch zum Durchbruch und führte in diesen Fällen nach Änderung der Außenbedingungen zu interessanten morphogenetischen Neubildungen (*Eudorina*-Formen); über diese Versuche wird in der nächsten (4.) Mitteilung berichtet werden.

<sup>2)</sup> Bei zu ganz anderen Zwecken angestellten Versuchen hat mein Mitarbeiter Herr Dr. BELAR ein Resultat erhalten, das auch in diesem Sinne verwertet werden kann. Dr. BELAR hat nämlich *Stentor viridis* in steriler Nährsalzlösung bei künstlichem Licht ohne Fütterung gehalten, um zu prüfen, ob die Zoochlorellen allein das für den Stoffwechsel des Infusors nötige Betriebsmaterial liefern können. Das ist in der Tat der Fall, soweit es den Betriebsstoffwechsel betrifft, dagegen unterbleibt Wachstum und Teilung. Die übrigen Lebensprozesse gehen ungestört lange Zeit hindurch weiter und die Tiere sterben erst nach 4–9 Wochen, während normal gefütterte Tiere jeden Tag 1–2 Teilungen durchführen.



physiologischen Fragestellungen wären daher in bejahendem Sinne beantwortet, das Vorkommen eines physiologischen Todes auch bei den sich nur durch Zweiteilung vermehrenden Protisten aufgezeigt. Ob man allerdings bei letzteren die Fortpflanzung tatsächlich zugleich für den physiologischen Tod dieser Formen halten will oder nicht, ist für die Sache gleichgültig. Das Gefühl vieler wird sich natürlich dagegen sträuben, einen Vorgang als physiologischen Tod zu bezeichnen, bei dem nicht nur die volle Lebenssubstanz erhalten bleibt, sondern auch zwischen Kind- und Elternindividuen kaum ein Unterschied besteht, infolge des Fehlens einer auffallenden Entwicklung.<sup>1)</sup>

Mag nun auch, wer will, den Ausdruck Tod vermeiden, so ist doch zuzugeben, daß ein Altern auch bei den Protozoen-

<sup>1)</sup> Der Begriff „Tod“ stammt aus dem alltäglichen Leben und ist natürlich auch in der Wissenschaft stark mit anthropomorphen Vorstellungen durchsetzt. Für das naive Denken ist der Tod natürlich auch mit dem Aufhören eines individuellen Bewußtseins verbunden. Man überlegt vielfach gar nicht, zu welchen Ungeheuerlichkeiten man gelangt, wenn man bei Teilung eines Tieres z. B. eines Infusors, eines Turbellars oder eines Borstenwurms sog. Unsterblichkeit annimmt, wodurch denn auch das Bewußtsein in zwei identische Tochterbewußtseine sich teilen würde. Bei Übernahme von Begriffen des alltäglichen Lebens in die Wissenschaft müssen eben notwendigerweise solche Begriffe eine Umprägung — sei es eine Erweiterung oder Verengung, jedenfalls aber eine präzisere Fassung — erfahren können, damit sie aus ihrer Unbestimmtheit herausgehoben und von den ihnen fast immer anhängenden anthropomorphen Schlacken gereinigt werden. Es ist das eigentlich eine so selbstverständliche Sache, daß man glauben sollte, es brauchte darüber in einer wissenschaftlichen Diskussion kein Wort verloren zu werden. Es sei hier z. B. nur an den Begriff der „Befruchtung“ erinnert, der ja heute in unserer Wissenschaft eine völlige Wandlung und Umprägung erfahren hat, oder den Begriff „Generation“, der wissenschaftlich in zweierlei ganz verschiedenem Sinne gebraucht wird (in der Fortpflanzungsbiologie und in der Vererbungslehre). Wie nötig ein solcher Hinweis aber ist, zeigt folgendes Zitat aus DOFLIN (1919): „Mit Unrecht wird eine solche Idee (gemeint ist die Anschauung, die Teilung mit dem Tode gleich zu achten) in die biologische Diskussion geworfen. Der Naturforscher kann mit ihr nichts anfangen; das hieße den Begriff des Todes entmaterialisieren (sic! Dagegen lehrt uns doch gerade die Wissenschaftslehre oder Erkenntnistheorie, daß Wissenschaft nichts anderes als Rationalisierung, d. h. Entmaterialisierung der Erscheinungswelt bedeutet). Es wäre sozusagen ein logischer Tod, aber kein richtiger, bitterer, harter Tod; zum Tod gehört die Leiche.“ Das Zitat zeigt deutlich, wie ein solch wissenschaftlich nicht gereinigter, anthropologischer Begriff geradezu hemmend für die Forschung wirkt und ein wichtiges physiologisches Problem, eine neue physiologische Fragestellung dadurch weggeleugnet wird. Nach unseren obigen Ausführungen und den mitgeteilten Experimenten ist wohl ein weiteres Wort zu diesem Ausspruch DOFLINS nicht mehr nötig. Es erübrigt sich uns nur noch die Konsequenz aus dieser Sachlage des sog. Todproblems zu ziehen und den Begriff „Tod“ entweder wissenschaftlich ganz zu vermeiden (ebenso wie den Begriff „Unsterblichkeit“) oder aber ihm eine größere Ausdehnung und scharfe wissenschaftliche Definition zu geben, indem man den Individualtod als definitiven „Abschluß einer individuellen Entwicklung“ betrachtet.

individuen vorkommt und die Fortpflanzung nicht nur eine Vermehrung, sondern auch eine Verjüngung der lebenden Substanz bedeutet.

Allerdings ist auch hier noch ein Einwand möglich. Es könnte nämlich der Fall sein, daß das Altern und Absterben bei den Hefen und Volvocineen nicht durch das dauernde Wachstum, also den Lebensprozeß an sich hervorgerufen sei, sondern durch die Verhinderung der Fortpflanzung. Durch Versuche, in der Art wie die von RUBNER und mir kann dieser Einwand nicht erledigt werden, wenn er mir auch sehr unwahrscheinlich dünkt. Es wäre daher sehr erwünscht, wenn noch durch eine andere Versuchsanordnung das Altern der Protozoenindividuen und die verjüngende Wirkung der Fortpflanzung experimentell aufgezeigt werden könnte. Es ließe sich das etwa in der Weise durchführen, daß man Protozoenindividuen kurz vor und kurz nach der Zellteilung, sowie zwischen zwei Teilungen in ihrer Widerstandsfähigkeit gegen verschiedene Schädlichkeiten (Gifte, verschiedene Arsenverbindungen, Alkohole usw.) prüfen würde. Derartige planmäßig durchgeführte Versuche liegen bei Protisten bisher nicht vor. Dagegen hat CHILD ähnliche Untersuchungen an sich ungeschlechtlich teilenden Planarien ausgeführt, indem er sie vor, nach und zwischen den Teilungen der Einwirkung von Alkohol aussetzte. CHILD hat dabei in der Tat feststellen können, daß die alten Tiere nicht nur anfälliger und angreifbarer als die jungen, sondern auch als die in Teilung begriffenen sind, und er hat aus seinen Versuchen auch denselben Schluß wie wir gezogen, daß der Fortpflanzung eine verjüngende Wirkung zukommt. Es wäre höchst erwünscht, derartige Versuche, die, wie ersichtlich, bei den Protisten zugleich das Grundproblem der Fortpflanzung, das Verhältnis von Wachstum zu Teilung betreffen, in ausgedehnter und planmäßiger Weise an dazu geeigneten Protisten durchzuführen.

Wenn somit ein Altern der Individuen und eine verjüngende Wirkung der Fortpflanzung als bewiesen oder doch zum mindesten als wahrscheinlich angesehen werden kann, so fragt es sich nun: inwiefern äußert sich das Altern, wodurch wird es verursacht und inwiefern wirkt die Fortpflanzung verjüngend?

Von einer Lösung dieser Fragen kann zunächst noch keine Rede sein. Sind sie ja bisher in der biologischen Literatur noch kaum aufgeworfen worden; daher soll auch auf eine eingehende Diskussion hier verzichtet werden. Nur zwei Lehren seien in Hinsicht auf die eben aufgeworfenen Fragen noch mit unserer Problemstellung in Zusammenhang gebracht, die sich allerdings nach den Darstellungen

ihrer Urheber mehr um das Befruchtungsproblem drehen, die aber doch wohl richtiger in Zusammenhang mit unserer Fragestellung gebracht werden, ich meine die Kernplasmatheorie RICHARD HERTWIG's und die Lehre von dem Gegensatz zwischen generativem und trophischem Kernmaterial, die hauptsächlich R. GOLDSCHMIDT weiter entwickelt hat. Trotz tiefgreifender Unterschiede zwischen beiden Lehren, auf die ich aber hier nicht näher einzugehen brauche, stimmen die Anschauungen dieser beiden Forscher darin überein, daß durch den Lebensprozeß als solchen eine Mehrproduktion von somatischem trophischem Kernmaterial in der Zelle angehäuft wird, das schließlich schädlich, ja direkt tödlich für das Zellindividuum wirkt, falls nicht eine Regulation dieses Übergewichtes erfolgt, eine Herstellung des Gleichgewichtszustandes zustande kommt. Allerdings nehmen HERTWIG und in etwas anderer, noch extremerer Weise GOLDSCHMIDT an, daß die Summierung der schädlichen somatischen trophischen Kernsubstanzen sich erst im Laufe einer Reihe von ungeschlechtlichen Generationen bemerkbar mache und daß nur die Befruchtung resp. die Parthenogenese oder ähnliche sexuelle Prozesse diese Regulation herbeizuführen imstande sei. (Nach HERTWIG auch die Encystierung.) Ja GOLDSCHMIDT (1920) erblickt geradezu die tiefste Bedeutung der Befruchtung resp. Sexualität in einer solchen Umregulation der Kernsubstanzen.

Daß diese Bewertung der Befruchtung und Sexualität nicht zutreffen kann, wurde oben schon bei der Besprechung des Befruchtungsproblems ausgeführt. Trotzdem scheint mir diesen Auffassungen ein richtiger Kern für das Problem des Alterns zugrunde zu liegen, nur müssen sie von der Verquickung mit den Befruchtungs- und Sexualitätsfragen losgelöst und in Zusammenhang mit dem Fortpflanzungsproblem gebracht werden. Denn wir sahen ja, daß es Organismen gibt, bei denen die Kern- und Zellteilung allein völlig genügt, um eine derartige Summierung von Schädlichkeiten (Verschiebung der K-P-Relation, Anhäufung von trophischem Kernmaterial) immer wieder rückgängig zu machen. Das scheint mir aber bei allen monoenergiden Protisten der Fall zu sein, die kein übermäßig gesteigertes Wachstum besitzen, wie Amöben, Thecamöben, Flagellaten, die meisten Algen und Pilze. Wenn sich hier Kern und Zelle teilen, genügen die hierbei stattfindenden Umsätze zwischen Kern und Protoplasma oder die Auflösung resp. Elimination von Binnenkörpern (bei *Chlamydomorphys*, manchen Flagellaten [Volvocineen] löst er sich auf, bei Phaeophyceen, Ascomyceten und vielen anderen wird er eliminiert), um die normalen Gleichgewichtsverhältnisse, die normale Kernplasmarelation wieder herzustellen. Bei Formen mit

gesteigertem Zell- und Kernwachstum wie Gregarinen und Radiolarien dagegen und zwar nicht nur bei der geschlechtlichen, sondern auch bei der ungeschlechtlichen geht ein großer, ja der größte Teil des Kernmaterials zugrunde und nur ein kleiner Rest geht als eigentliches Keimplasma in die Mitose über. Besonders schön tritt dies bei der Schizogonie der Aggregaten (LÉGER) und der Isosporenbildung der Thalassicolliden (beides agame Vermehrungsvorgänge) zutage.

Wieder anders liegen die Verhältnisse bei den Infusorien. Hier wird von vornherein ein besonderer somatischer Kern, der *Macronucleus*, von dem das Keimplasma repräsentierenden *Micronucleus* differenziert. Auch hier genügt vielfach, wie gerade die Untersuchungen von RICHARD HERTWIG und seinen Schülern (POPOFF usw.) gezeigt haben, die Regulierung, die die Kernplasmarelation bei der gewöhnlichen Zweiteilung erfährt, um eine Verjüngung herbeizuführen; ob für dauernd, ist allerdings heute noch nicht entschieden, da, wie oben näher ausgeführt wurde, die Parthenogenese, mit der eine Neubildung des *Macronucleus* verbunden ist, bisher noch nicht mit Sicherheit ausgeschaltet werden konnte. Doch wenn die Notwendigkeit der Parthenogenese in Zukunft auch tatsächlich sich mit Sicherheit erweisen ließe, so läge darin keineswegs ein Widerspruch gegen die von uns angenommene Verjüngung, bei der Teilung, da eben in der Infusorienzelle besondere Verhältnisse vorliegen durch die Differenzierung eines Somakernes, für welche die Zweiteilung als Verjüngung auf die Dauer nicht genügen würde und andere tiefgreifende Regulationen, wie die Neubildung des *Macronucleus* durch Parthenogenese einsetzen würde<sup>1)</sup>.

Es bleibt uns nun nur noch die Frage zu erörtern, ob die verjüngende Wirkung der Fortpflanzung durch andere Regulationen ersetzt werden kann. Bei der Besprechung der Infusorienverhältnisse ist diese Frage ja bereits angeschnitten und bejaht worden, indem wir mit der Parthenogenese

---

<sup>1)</sup> Dieser Vorgang könnte natürlich auch ohne den sexuellen Charakter der betreffenden Zellen, der durch die typische Art der *Micronucleusteilungen* gekennzeichnet ist, zustande kommen, wie das vor vielen Jahren bereits BÜTSCHLI ausgeführt hat. Neuerdings deutet DOPLEIN (1919) die Parthenogenese der *Paramacien* geradezu in dieser Weise. Ich selbst hatte nach der vorläufigen Mitteilung von WOODRUFF u. ERDMANN die Sache ebenfalls in dieser Weise als eine einfache Regulation des somatischen *Macronucleus* aufgefaßt. Nach den jetzt vorliegenden genaueren Arbeiten muß jedoch der sexuelle Charakter der betreffenden Infusorienzellen anerkannt und der Vorgang als Parthenogenese bezeichnet werden, denn das Vorhandensein der beiden *Micronucleusteilungen* (Reifeteilungen), die zudem von den vegetativen Teilungen deutlich morphologisch verschieden sind, beweist ohne weiteres ihren sexuellen Charakter.

einen solchen tiefgreifenden Regulationsvorgang verbunden sahen. Bei der Besprechung des Befruchtungsproblem es haben wir ferner schon eingehend auf die eventuelle verjüngende Wirkung der Sklerotienbildung (Encystierung) bei den Myxomyceten hingewiesen und auch GOETTE und vor allen Dingen RICHARD HERTWIG haben immer wieder diese verjüngende Bedeutung der Encystierung betont. An dieser Stelle sei jedoch diese Frage noch von einem ganz anderen Gesichtspunkte aus beleuchtet und behandelt. Man hat vielfach angenommen, und POPOFF, WOODRUFF u. a. haben durch schöne Versuche an Infusorien die Richtigkeit dieser Ansicht erwiesen, daß die Anhäufung von Excretstoffen der Tiere selbst die Depression, also die ungünstige Verschiebung der Kernplasmarelation (Vermehrung des trophischen Kernmaterials) hervorrufe. Mithin wäre nicht nur die Vermehrung von trophischen Kernsubstanzen in der Individualentwicklung, sondern letzten Endes auch die noch weitere Anhäufung derselben bei gesteigertem Wachstum (die oben angeführten *Stephanosphaera*- und *Gonium*-Versuche mit) oder in einer Reihe von Generationen (Infusorien, eventuell Myxomyceten) durch diese Anhäufung der Exkretstoffe bedingt. Andererseits hat CHILD den meiner Meinung nach sehr beachtenswerten Gedanken ausgesprochen, daß das Wesen des Alterns darin bestehe, daß in den älteren Zellen der ganze Metabolismus gehemmt sei und daß durch die Teilung (Isolation resp. Verkleinerung des Systems) eine Verjüngung durch Zunahme des Metabolismus und Forträumung der für den Metabolismus vorhandenen strukturellen Hindernisse zustande komme. Bei der Begründung dieser Auffassung stützt er sich auf die schon oben angeführten Experimente an Planarien. Wenn diese beiden Gedankengänge richtig sind (und die ausgeführten Versuche sprechen in hohem Maße dafür), dann müßte es aber möglich sein, durch eine ganz andersartige Regulation, nämlich die künstliche Verkleinerung des biologischen Systems vor Eintritt der natürlichen Teilung die verjüngende Wirkung des Systems zu erzielen, und auf diese Weise eventuell für längere oder kürzere Zeit die Fortpflanzung auszuschalten. Solche Versuche habe ich an den Turbellarien *Stenostomum leucops* und *Stenostomum unicolor* sowie an dem Infusor *Stentor coeruleus* durchgeführt und in der Tat lange Zeit hindurch ohne nachweisbare Schädigungen für die betreffenden Organismen die Fortpflanzung ausgeschaltet und die Tiere in dauerndem Wachstum erhalten. So konnte z. B. in einer Versuchsreihe *Stenostomum leucops* durch ca. 20 Regenerationen des Hinterendes das System dauernd in Funktion erhalten werden, während an den parallel geführten Schwesterkulturen in der gleichen Zeit gegen 30 Fortpflanzungsvorgänge stattfanden. In einem anderen Versuch bei

*Stentor* wurden 34 Zellteilungsgenerationen durch 25 Regenerationen ersetzt<sup>1)</sup>. Die durch die künstliche Verkleinerung bewirkte Verkleinerung des Systems hatte also den gleichen Effekt wie die normale Zweiteilung, meiner Meinung nach ein glatter Beweis für die Richtigkeit der obigen Ausführungen.

Die oben kurz skizzierte Umdeutung und Berichtigung der HERTWIG'schen und GOLDSCHMIDT'schen Anschauungen lassen sich nun, wie ich nach allem bisher Gesagten wohl nicht weiter auszuführen brauche, mit den zuletzt besprochenen experimentellen Erfahrungen und der Auffassung von der verjüngenden Wirkung der Fortpflanzung, leicht vereinigen. Damit wäre aber der sachliche Inhalt der Kernplasmatheorie RICHARD HERTWIG's und der Hypothese vom generativen und trophischen Kernchromatin GOLDSCHMIDT's mit dem sachlichen Gehalt der Anschauungen von GOETTE, mir und CHILD über die verjüngende Wirkung der Teilung zu einer einheitlichen widerspruchlosen Auffassung des Alterns und der Verjüngung der Protisten-Individuen und Protistengenerationen verschmolzen. Zukünftige Experimente müssen zeigen, was an Wahrheitsgehalt diesem Hypothesengebäude innewohnt und wieviel von ihm in künftige Theorien übergehen wird.

### Literaturverzeichnis.

- BENNECKE, W. (1908): Über die Ursachen der Periodizität im Auftreten der Algen usw. Internat. Revue ges. Hydrobiol. Vol. 1.
- BORGBERT, A. (1909): Untersuchungen über die Fortpflanzung der trypileen Radiolarien, speziell von *Aulacantha scolymantha*. II. Teil Arch. f. Protistenk. 1909 Bd. 14.
- BRANDT, K. (1902): Beiträge zur Kenntnis der Colliden. Arch. f. Protistenk. Bd. 1.
- BURGER, O. F. (1919): Sexuality in *Cunninghamella*. Botan. Gazette 1919 Vol. 68. Ref. in Zeitschr. f. Bot. Bd. 12.
- BÜTSCHLI, O. (1876): Studien über die ersten Entwicklungsvorgänge der Eizelle, die Zellteilung und die Conjugation der Infusorien. Abhandl. d. Senckenb. Naturf. Ges. Bd. 10.
- (1882): Gedanken über Leben und Tod. Zool. Anz. Bd. 5.
- (1889): Protozoa. in: BRONN's Kl. u. Ordn. d. Tierreichs. Leipzig-Heidelberg.
- CALKINS, G. N. (1902): Studies on the life-history of Protozoa. I. The life-cycle of *Paramecium caudatum*. Arch. f. Entwicklunsmech. (Orig.) Bd. 15 p. 139.
- CARTER, H. J. (1856): Notes on the freshwater infusoria of the island of Bombay. Ann. and Magaz. of nat. hist. II Vol. 8.
- (1857): Additional notes on the freshwater infusoria. Ibid. (II) Vol. 20.
- (1858): On fecundation in *Eudorina elegans* and *Cryptogleua*. Ibid. (III) Vol. 2.

<sup>1)</sup> Über diese Versuche soll demnächst im Biol. Centralblatt eingehend berichtet werden.

- CHILD, C. M. (1911): Senescence rejuvenescence based on experiments with *Planaria*. Arch. f. Entwicklungsmech. Bd. 31.
- CONRAD, W. (1913): Observations sur *Eudorina elegans* EHRBG. Rec. Inst. botan. Léo Errera Vol. 9 p. 321—343.
- CORRENS, C. (1913): Selbststerilität und Individualstoffe. Biol. Centralbl. Bd. 33.
- DOFLEIN, F. (1918): Studien zur Naturgeschichte der Protozoen. X. *Polytomella agilis*. Zool. Jahrb., Abt. Anat., Bd. 41.
- (1919): Das Problem des Todes und der Unsterblichkeit bei den Pflanzen und Tieren. Jena (G. Fischer).
- ENRIQUES, P. (1907): La morte. Rivista di Scienza Vol. 2.
- ENTZ, G. (1918): Über die mitotische Teilung von *Polytoma uvella*. Arch. f. Protistenk. Bd. 38 H. 3.
- ERDMANN, RH. (1910): Depression und fakultative Apogamie bei *Amoeba diploidea*. Festschr. f. R. HERTWIG Bd. 1 p. 325.
- ERDMANN u. WOODRUFF (1914): Vollständige periodische Erneuerung des Kernapparates ohne Zellverschmelzung bei reinlinigen Paramäcien. Biol. Zentralbl. Bd. 34 Nr. 8 p. 484.
- FRITSCH, K. (1920): Das Individuum im Pflanzenreiche. Naturw. Wochenschr. Bd. 19.
- GÖBEL, K. (1882): Grundzüge der Systematik und speziellen Pflanzenmorphologie (4. Aufl. d. Lehrbuches d. Botanik von J. SACHS, neubearbeitet). Leipzig (W. Engelmann).
- GÖTTE, A. (1883): Über den Ursprung des Todes. Hamburg und Leipzig.
- GOLDSCHMIDT, R. (1904): Die Chromidien der Protozoen. Arch. Protistk. Bd. 5.
- (1920): Mechanismus und Physiologie der Geschlechtsbestimmung. Berlin (Gebr. Bornträger).
- GOROSCHANKIN, A. (1875): Die Genesis der Palmellaceen. Ges. naturf. Freunde Moskau. Ref. im Bot. Jahresber.
- GUILLIERMOND, M. A. (1911): Aperçu sur l'évolution nucléaire des Ascomycètes et nouvelles observations sur les mitoses des asques. Revue générale de Botanique T. 23 p. 89.
- HARTMANN, M. (1906): Tod und Fortpflanzung. München.
- (1917): Untersuchungen über die Morphologie und Physiologie des Formwechsels (Entwicklung, Fortpflanzung, Befruchtung und Vererbung) der Phytonadinen (Volvocales). II. Mitteil. Sitz.-Ber. d. kgl. Akad. d. Wiss. Bd. 52 p. 760.
- (1918): Untersuchungen über die Morphologie und Physiologie des Formwechsels (Entwicklung, Fortpflanzung, Befruchtung und Vererbung) der Phytonadinen (Volvocales). I. Mitteil. Arch. f. Protistenk. Bd. 39 H. 1.
- (1918): Ergebnisse und Probleme der Befruchtungslehre im Lichte der Protistenforschung. „Die Naturwissenschaften“ 6. Jahrg. Heft 24/25.
- HARTMANN, M. u. HAMMER, E. (1909): Untersuchungen über die Fortpflanzung von Radiolarien. Sitz.-Ber. naturf. Freunde Berlin.
- HENFREY, A. (1856): Notes on some freshwater confereoid. Algae, new to Britain. Transact. of the micr. Soc. of London, New Series Vol. 4.
- HERTWIG, R. (1889): Über die Conjugation der Infusorien. Abhandl. d. kgl. bayr. Akad. d. Wiss. München II, Bd. 17.
- HERTWIG R. (1902): Die Protozoen und die Zelltheorie. Arch. f. Protistenk. Bd. 1.
- (1906): Über die Ursache des Todes. Beil. zur allgem. Ztg. München Nr. 288/89.
- (1914): Über Parthenogenesis der Infusorien und die Depressionszustände der Protozoen. Biol. Zentralbl. Bd. 34 p. 557.

- HUTH, W. (1913): Zur Entwicklungsgeschichte der Thalassicollen. Arch. f. Protistenk. Bd. 30.
- JAHN, E. (1920): Lebensdauer und Alterserscheinungen eines Plasmodiums (Myxomycetenstudien Nr. 10). Ber. d. deutsch. bot. Ges. Bd. 37.
- JENNINGS, H. S. (1913): The effect of conjugation in paramaecium. Journ. exper. Zool. Vol. 14 p. 279.
- JENNINGS, H. S. and LASHLEY, K. S. (1913): Biparental inheritance and the question of sexuality in paramaecium. Journ. exper. Zool. Vol. 14 p. 393.
- JOLLOS, V. (1913): Experimentelle Untersuchungen an Infusorien. Biol. Zentralbl. Bd. 33 p. 222.
- (1914): Variabilität und Vererbung bei Microorganismen. Zeitschr. f. induct. Abst.- und Vererb.-Lehre Bd. 12 p. 14.
- (1916): Die Fortpflanzung der Infusorien und die potentielle Unsterblichkeit der Einzelligen. Biol. Zentralbl. Bd. 36 p. 497.
- (1920): Experimentelle Vererbungsstudien an Infusorien. Zeitschr. f. induct. Abst.- u. Vererb.-Lehre Bd. 24 H. 1.
- KLEBS, G. (1899): Über die Bedingungen der Fortpflanzung bei einigen Algen und Pilzen. Jena (G. Fischer).
- (1900): Zur Physiologie und Fortpflanzung einiger Pilze. Jahrb. f. wiss. Bot. Bd. 35.
- (1904): Probleme der Entwicklung. Biolog. Centrbl.
- (1917): Über das Verhältnis von Wachstum und Ruhe bei den Pflanzen. Biol. Zentralbl. Bd. 37 p. 373.
- KORSCHÉLT, E. (1917): Lebensdauer, Altern und Tod. Beitr. z. pathol. Anat. u. allgem. Pathologie. Herausgegeben von L. ASCHOFF, Bd. 63.
- KNIEP, H. (1919): Untersuchungen über den Antherenbrand (*Ustilago violacea* PERS.). Zeitschr. f. Bot. 11. Jahrg. Nr. 6.
- (1919): Über morphologische und physiologische Geschlechtsdifferenzierung. Verhandl. d. phys.-med. Gesellsch.
- LIPSCHÜTZ, A. (1915): Allgemeine Physiologie des Todes. Braunschweig.
- MAUPAS, E. (1888): Recherches experimentales sur la multiplication des infusoires ciliés. Arch. de zool. exper. et gen. T. 6.
- MERTON, H. (1908): Über den Bau und die Fortpflanzung von *Pleodorina illinoisensis* KOFOID. Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. 90 p. 445.
- OLTMANN, F. (1904): Morphologie und Biologie der Algen. Jena (G. Fischer).
- PASCHER, A. (1918): Flagellaten und Rhizopoden in ihren gegenseitigen Beziehungen. Arch. f. Protistenk. Bd. 38.
- POPOFF, M. (1909): Experimentelle Zellstudien. III. Über einige Ursachen der physiologischen Depression der Zelle. Arch. f. Zellforsch. Bd. 4 H. 1.
- RUENER, M. (1908): Das Problem der Lebensdauer und seine Beziehungen zu Wachstum und Ernährung. München und Berlin.
- SCHAUDINN, FR. (1905): Neuere Forschungen über die Befruchtung bei Protozoen. Verhandl. d. Deutsch. Zool. Ges.
- SCHELLACK, C. (1907): Über die Entwicklung und Fortpflanzung von *Echinomera hispida* (A. SCHN.). Arch. f. Protistenk. Bd. 9 p. 297.
- SCHLEIP, W. (1915): Lebenslauf, Alter und Tod des Individuums. Kultur der Gegenwart. Allg. Biol. 3, IV Bd. 1.
- SWINGLE, W. T. (1897): Zur Kenntnis der Kern- und Zellteilung bei den Sphacelariaceen. Jahresber. f. wiss. Bot. Bd. 30.
- WARBURG, O. (1919): Über die Geschwindigkeit der photochemischen Kohlensäurezersetzung in lebenden Zellen. I. Biochem. Zeitschr.



- WHISMANN, A. (1882): Über die Dauer des Lebens. Jena.  
 — (1892): Über Leben und Tod. Jena.  
 WOODRUFF, L. L. (1908): The life cycle of *Paramecium* etc. Amer. Natur. Vol. 42.  
 — (1913): 3300 Generationen von *Paramecium* ohne Conjugation und künstliche Reizung. Biol. Zentralbl. Bd. 33.  
 WOODRUFF, L. L. and R. ERDMANN (1914): Complete periodic nuclear reorganization without cell fusion in a pedigreed race of *Paramecium*. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. Vol. 11 p. 56.  
 — — (1914a): A normal periodic reorganization process without cell fusion in *Paramecium*. Journ. exper. Zool. Vol. 17.  
 YOUNG, R. T. (1917): Experimental induction of eudomixis in *Paramecium aurelia*. Journ. exper. Zool. Vol. 24.  
 — (1918): The relation of Rhythms and eudomixis their periodicity and synchronism in *Paramecium aurelia*. Biol. Bull. Vol. 35.

### Tafelerklärung.

#### Tafel 1.

*Eudorina elegans*, Microphotogramme von lebenden oder kurz vorher mit Chromsäure oder Alkohol abgetöteten Kolonien.

Fig. 1—6. Normale Kolonien.

Fig. 1. Normale, vier Tage alte Kolonie am Abend vor der Teilung. 100×.

Fig. 2. Eben solche kurz nach der Teilung (am Morgen des 5. Tages). 100×.

Fig. 3. Dieselbe Kolonie wie in Fig. 1. 500×.

Fig. 4. Dieselbe Kolonie wie in Fig. 1. Hinterende. 800×.

Fig. 5. Normale Teilung, 8-Zellstadium. 1000×.

Fig. 6. Ganz junge Kolonien (Mittag des 5. Tages). 800×.

Fig. 7—9. Anormale Kolonien, experimentell erzeugt durch Dauerbeleuchtung.

Fig. 7. Beginn der überstürzten Teilungen. 800×.

Fig. 8. Überstürzte Teilung, weiter vorgeschritten. 800×.

Fig. 9. Noch weiter vorgeschritten (ausgesprochene Zwergform; 8 Zellkolonien mit Teilung in je 4 Zellen). 800×.

#### Tafel 2.

Alle Figuren, bis auf Fig. 18, 1900× (Immersion 2 mm, Okular 12). Fig. 18. 2500× (Immersion 2 mm, Okular 18). Fig. 10—16. Schnitte (4μ). Dr. BELAR gezeichnet.

Fig. 10—21. Normale Teilung von aus dem Freien gefischten Kolonien (Hundekehlesee).

Fig. 18a, b. Zwei Äquatorialplatten der 2. Teilung, von oben gesehen. a Metaphase, b Anaphase (verdoppelt).

Fig. 20. Becherförmige 32zellige Kolonie; ein Teil der Zellen nur im Umriss gezeichnet.

Fig. 21. Ausgebildete junge Kolonie aus derselben Mutterkolonie wie Fig. 20.

Fig. 22—25. Kulturformen aus verschiedenen alten Kolonien.

Fig. 26. Riesenform (6 Tage alt).

Fig. 27—29. Überstürzte Teilungen (nach 7 Stunden ununterbrochener Exposition am konstanten Lichte). Totalpräp. Sub. Alk. Hämalaun.

Nachdruck verboten.  
Übersetzungsrecht vorbehalten.

(Aus dem Kaiser Wilhelm-Institut für Biologie in Berlin-Dahlem.  
Abt. Hartmann.)

## Untersuchungen über Thecamöben der *Chlamydothryx*-Gruppe.

Mit Benutzung des Nachlasses von HERMANN SCHÜSSLER.

Von

Karl Bělař, Berlin-Dahlem.

(Hierzu Tafel 3—10 und 24 Textfiguren.)

### Inhaltsverzeichnis.

|   | Seite |
|---|-------|
| 1. Einleitung . . . . .                                     | 287   |
| 2. Material und Untersuchungstechnik . . . . .              | 288   |
| 3. <i>Chlamydothryx minor</i> n. sp. . . . .                | 291   |
| 4. <i>Chlamydothryx schaudinni</i> H. SCHÜSSLER . . . . .   | 299   |
| 5. <i>Chlamydothryx major</i> n. sp. . . . .                | 303   |
| 6. <i>Chlamydothryx parva</i> n. sp. H. SCHÜSSLER . . . . . | 304   |
| 7. <i>Rhogostoma schüssleri</i> n. gen. n. spec. . . . .    | 305   |
| 8. <i>Pamphagus hyalinus</i> HERTWIG et LESSER . . . . .    | 316   |
| 9. Die Plasmogamie . . . . .                                | 326   |
| 10. Allgemeine Bemerkungen . . . . .                        | 344   |
| a) Zur Konstitution der Protistenkerne . . . . .            | 344   |
| b) Zur Zellteilungsmechanik . . . . .                       | 345   |
| c) Zur Beziehung zwischen Kern- und Plasmateilung . . . . . | 348   |
| d) Amitose . . . . .  | 348   |
| 11. Literaturverzeichnis . . . . .                          | 350   |
| 12. Tafelerklärung . . . . .                                | 352   |

### 1. Einleitung.

Mit der Herausgabe eines Teiles des wissenschaftlichen Nachlasses von HERMANN SCHÜSSLER betraut, übergebe ich hiermit das Resultat der Öffentlichkeit. Leider waren von der beinahe fertiggestellten Arbeit sämtliche Notizen über Lebendbeobachtungen verloren gegangen und das mir zur Verfügung stehende Material beschränkte sich auf ca. 80 Präparate und einige Zeichnungen sowie

Präparatskizzen. Um nun diese Lücke auszufüllen und speziell das Plasmogamieproblem weiterhin genetisch zu erklären, stellte ich neuerdings Untersuchungen an, die jedoch den ihnen von mir ursprünglich gesteckten Rahmen bald überschritten; diese seien hier zu einem vorläufigen Abschluß gebracht. Um die Darstellung möglichst einheitlich zu gestalten, stelle ich meine im Leben gemachten Beobachtungen an *Chlamydophrys minor* an die Spitze, um an diesem Objekt in die Morphologie der ganzen Gruppe einzuführen, dann folgen die Resultate der Bearbeitung des SCHÜSSLER'schen Nachlasses, dann die Untersuchungen über zwei neue Thecamöben. Die Beschreibung und Analyse der Plasmogamieerscheinungen ist an den Schluß gestellt; er enthält die aus der Bearbeitung der SCHÜSSLER'schen Präparate gewonnenen Resultate sowie eigene Beobachtungen. Zur weiteren Aufgabe hatte ich mir das Studium der sexuellen Phänomene gestellt, die auszulösen mir bis jetzt noch nicht gelungen ist. Ich will hier hervorheben, daß, so groß auch mein Anteil an dieser Arbeit zu sein scheint, die wesentlichsten Resultate derselben doch bereits durch SCHÜSSLER festgestellt worden waren. Schließlich ist das Ganze nur eine Wiederholung der SCHAUDINN'schen Arbeit auf breiterer Basis und Ausfüllung geringer Lücken derselben — eine Enttäuschung, die jedem bereitet wird, der an einem der von SCHAUDINN behandelten Themen weiterarbeitet und konstatieren muß, daß die jeweilige Hauptsache bereits in den Mitteilungen SCHAUDINN's enthalten ist, oft freilich nur in kurzen Sätzen versteckt. An dieser Stelle will ich auch der angenehmen Pflicht nachkommen, Herrn Geh. Rat HEIDER für die Erlaubnis, die Bibliothek des Zoologischen Instituts zu benutzen, meinen besten Dank auszusprechen.

## 2. Material und Untersuchungstechnik.

Von den im folgenden untersuchten Thecamöben waren drei Arten von SCHÜSSLER in Reinkulturen (Klonen) auf verschiedenen Nährböden gezogen worden.

Die von mir neu beschriebenen Formen (*Chlamydophrys minor*, *Rhogostoma schüssleri* und *Pamphagus hyalinus*) wurden an Kulturen studiert, die jeweils in letzter Linie von einem isolierten Individuum abstammten, also Klone repräsentierten.

*Chlamydophrys minor* und *Rhogostoma schüssleri* waren auf Agarnährböden von verschiedener Zusammensetzung leicht zu züchten. Hauptsächlich wurde Knopagar<sup>1)</sup> meist mit 1proz. Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>-Lösung

<sup>1)</sup> 190 cm<sup>3</sup> Aq. dest., 10 cm<sup>3</sup> Knop'sche Nährlösung (1proz.), 1 g Agar.

schwach alkalisch gemacht, und Amöbenagar<sup>1)</sup>, beide mit verschiedenen Agarkonzentrationen (meist 0,5 Proz.), verwendet. Die Begleitbakterien waren eine ziemlich konstant bleibende Mischflora. *Pamphagus hyalinus* wurde nach vergeblichen Kulturversuchen mit festen Nährböden in Glasschalen (Boverischalen) kultiviert, die mit durch Berkefeldfilter filtriertem Teichwasser gefüllt waren; als Futter diente *Gonium pectorale*, in Reinkulturen auf Knopagar gezogen; mit einer Platinöse wurde ein kleines Quantum des Goniumbelags abgenommen und im Kulturschälchen abgeschüttelt.

Von der Untersuchung zwischen Deckglas und Objektträger kam ich bald ab, da sämtliche hier beschriebenen Formen gegen Sauerstoffmangel sehr empfindlich sind und nach spätestens 3 Stunden schwere Störungen aller vitalen Funktionen sich einstellen. Daher wurden alle Lebensbeobachtungen im hängenden Tropfen gemacht (der Tropfen möglichst flach ausgebreitet, bei Agarkulturen wurde das Wasser hierzu bloß der Kultur selbst entnommen). Wie lange sich die einzelnen Formen bei dieser Anordnung ungestört verhielten, ist im speziellen Teil angegeben. Jedenfalls ist sie der Untersuchung unter dem Deckglas weit überlegen.

Die Entwicklung einzelner Stadien wurde bei den Agarkulturformen 1—2 Wochen lang bei *Pamphagus* im hohlgeschliffenen Objektträger in der Weise verfolgt, daß auf die Unterseite einer Petrischale zunächst ein kleiner Kreis von 1 cm Durchmesser mit Fettstift gezogen wurde, dann wurde das gewünschte Individuum aus der Kultur mit einer feinen Kapillare aufgesaugt, in einem Tröpfchen Wasser gewaschen und dann in die Mitte des durch den Agar durchschimmernden Kreises auf die Kulturfläche ausgespritzt. Der Tropfen saugt sich bald ein und das Objekt ist innerhalb des Kreises jederzeit leicht aufzufinden. In diesem Fall wurden auch mit starken Trockensystemen (ZEISS DD) direkt auf der Agarplatte ohne Deckglas untersucht, wobei selbst die Kerne mit für die speziellen Zwecke hinlänglicher Deutlichkeit sichtbar wurden. Die Isolierung und die übrigen Manipulationen wurden bei einem schwachen Trockensystem mit großem Objektabstand (Winkel Apochr. 25 mm) vorgenommen.

Die Herstellung der fixierten Präparate erfolgte in üblicher Weise, entweder Abklatschpräparate oder, wenn bei dieser Methode zu wenig Material aufs Deckglas kam, vorsichtiges Abkratzen der

<sup>1)</sup> 200 cm<sup>3</sup> Aq. dest., 0,2 cm<sup>3</sup> Fleischextraktlösung (0,5proz.), 1 g Agar.

Plattenoberfläche mit einem schräg gestellten Deckglas und Anfertigung eines Ausstriches (wie Blutpräparate); fixiert wurde mit Sublimatalkohol (nach SCHAUDINN; eventuell kombiniert mit Eisessig und Pikrinsäure), FLEMMING's starkem Gemisch und Pikrinessigsäure (nach BOVERI). Jede dieser Fixierungen lieferte gute Resultate. Gefärbt wurde mit Hämalun (sauer, nach MAYER), HEIDENHAIN's Eisenhämatoxylin, Safranin-Lichtgrün, Methylgrün-Fuchsin-Orange<sup>1)</sup> (BIONDI's Gemisch) und DELAFIELD's Hämatoxylin. Da die Resultate aller Färbungen eindeutig waren, wurde von farbiger Wiedergabe Abstand genommen.

So selbstverständlich es eigentlich ist, halte ich es trotzdem für nötig, auf eines aufmerksam zu machen. Stellt man cytologische Untersuchungen an einem Protisten an, den man kultiviert, so ist die Gewinnung von überreichlichem Material eine leichte Sache. Um solches von den Teilungsstadien zu erhalten, darf man aber nicht in der Weise vorgehen, daß man eine Kultur mit geringem Ausgangsmaterial anlegt (ein Verfahren, welches die Protozoenzüchtung von der Bakteriologie her übernommen hat, dessen Vorteile hauptsächlich in der Dauerhaftigkeit einer solchen Kultur liegen und dessen Nachteile hier gezeigt werden. Die Protozoenzüchtung wird überhaupt gut tun, sich davon mehr zu befreien; wir züchten nicht „wuchernde“ Pilze, sondern Tiere, die wir füttern, woraus hervorgeht, daß sich bei geeigneter Futterwahl und Umwelt so ziemlich jeder freilebende Protist züchten läßt), dann wartet, bis die genügende Individuenzahl vorhanden ist und von dieser mehr

---

<sup>1)</sup> Dieses Verfahren, welches eine weitere Verbreitung in der Protozoentechnik verdient, sei hier kurz beschrieben: Fixierung: Sublimatalkohol mit oder ohne Eisessig. Ausgiebige Behandlung mit Jodjodkali + Jodalkohol. Eine allzu rigorose Entfernung des Jods ist nicht nötig, manchmal sogar nicht wünschenswert. Dann  $\frac{1}{4}$ —1 Stunde färben in BIONDI's Gemisch (die fertige Lösung, bei Grübler in Leipzig bezogen, ist mit 3 Teilen destilliertem Wasser zu verdünnen). Rasches Entwässern. Balsam. Man kann sich jedoch die Farblösung unter Umgehung der komplizierten Vorschriften von HEIDENHAIN jederzeit frisch herstellen. Methylgrün (nur das von GRÜBLER ist absolut verlässlich), Fuchsin S und Orange G werden getrennt in destilliertem Wasser bis zur Sättigung gelöst. Sodann verdünnt man die Methylgrünlösung in einem Reagenzglas mit destilliertem Wasser so lange, bis sie durchscheinend zu werden beginnt, fügt sodann tropfenweise Fuchsinlösung zu, bis die Lösung blauviolett wird, dann ebenso Orangefärbung, bis das Gemisch rotbraun ist (mit einem Stich ins Grünliche). Ein Tropfen, auf Filtrierpapier gebracht, muß einen blaugrünen Fleck, umgeben von einem roten und gelben Ring, hinterlassen. Dieses Gemisch wird mit dem doppelten Quantum destillierten Wassers verdünnt. Resultat: Chromatin blaugrün, Caryosome resp. Nucleoli rot oder violett, Plasma gelb bis rot.

oder weniger alten Kultur Präparate anfertigt; in einer solchen Kultur hat die Vermehrung meist fast aufgehört. Sondern: man muß eine Kultur mit viel Ausgangsmaterial anlegen (eine solche Kultur ist natürlich viel vergänglicher als die zuerst erwähnte (Stoffwechselendprodukte!), und dann sobald wie möglich (12—36 Stunden) nach Anlage der Kultur, wenn die Vermehrung noch im vollsten Gange ist, fixieren. Je größer die Teilungsrate, desto weniger darf man sich damit Zeit lassen. Dies gilt also besonders für Organismen, die man auf den üppigen Agarnährboden zieht, aber auch für Kulturen in flüssigen Medien.

Ich halte diese Bemerkung deshalb für angebracht, weil viele Mißerfolge auf diesem Wege zu erklären sind (so z. B. glaube ich, daß BREUER aus diesem Grunde bei seiner *Chlamydothryx grata* so wenig Teilungsstadien auffand).

### 3. *Chlamydothryx minor* n. sp.

Diese Form, welche der SCHÜSSLER'schen *Chlamydothryx major* sehr nahe steht, wurde aus einem Diatomeenbelag, der aus dem Grunewaldsee stammte, gezüchtet. Kultur in wässrigen Medien (Wasser, KNOR'sche Nährlösung, Heuinfus) wurde versucht, hatte aber wenig Erfolg. Eine Beschreibung der Morphologie und Teilung nach fixierten Präparaten kann ich mir infolge der weitgehenden Übereinstimmung mit den SCHÜSSLER'schen Formen ersparen und verweise auf Taf. 5 Fig. 57—65, aus der auch die Berechtigung der Aufstellung einer neuen Species hervorgeht: geringe Größe, schlanke Gestalt, geringe Chromosomenzahl (18—20), keine Äquatorialplatte, sondern Äquatorialring. Nur die Resultate der Lebendbeobachtungen seien hier mitgeteilt, da sie die wichtigste Ergänzung der SCHÜSSLER'schen Beobachtungen bringen. Im hängenden Tropfen verhalten sich die Tiere bis zu 3 Tagen völlig normal, nach Ablauf dieser Zeit begannen sich die Tiere zu encystieren; dies ist offenbar darauf zurückzuführen, daß im hängenden Tropfen alle Lebensfunktionen rascher vor sich gehen, als auf der Agarplatte — die Tiere bewegen sich rascher, das Intervall zwischen zwei aufeinanderfolgenden Teilungen ist herabgesetzt; der Stoffwechsel ist eben wesentlich reger und die störende Wirkung seiner Endprodukte macht sich daher frühzeitig bemerkbar.

Die Größe beträgt 16—20  $\mu$  (größter Längendurchmesser der Schale). Den Habitus zeigt Fig. 1. Man sieht die typischen *Chlamydothryx*-Charaktere: die überaus dünne Schale (dabei doch um

vieles fester als bei *Rhogostoma* und *Pamphagus*) und die zonare Gliederung der Protoplasten. Über die Schale ist nicht viel zu sagen; im Leben ist sie nur wahrnehmbar als scharfe optische Abgrenzung des Protoplasten gegen das umgebende Medium; sie läßt sich durch natürliche oder künstliche Plasmolyse (Rohrzuckerlösung) oder mittels Zerquetschen darstellen. Im fixierten Präparat ist sie nun gelegentlich in eben derselben Weise erkennbar wie bei *Chlamydomorphys major*. Ich versuchte, ihre chemische Zusammensetzung zu eruieren, vermochte jedoch keinerlei deutliche Farbenreaktionen zu erzielen, offenbar wegen ihrer allzu geringen Dicke.

Die Schalenmündung ist kreisrund und in keinerlei Weise besonders begrenzt.

Der Protoplast wird durch die Exkretkörnerzone wie durch einen scharfen Strich in Chromidialkappe und nutritorische Region zerlegt. Erstere ist glasklar. Der Kern zeigt deutliche Abgrenzung gegen das Plasma, eine völlig homogene Außenkernzone und ein rundes, oft vakuolisiertes Caryosom. Sonstige Strukturen sind an der Chromidialkappe nicht wahrnehmbar. Die ringförmige Zone im Kernäquator, die sich in den Präparaten findet (siehe bei *Chl. schaudinni*), ist im Leben nicht zu sehen.

Die Exkretkörner sind rundlich, stark lichtbrechend und ziemlich strikt auf eine schmale Zone beschränkt. Ihre chemische Konsistenz habe ich nicht untersucht. An der Grenze zwischen Exkretkörnerzone und der nachfolgenden Region liegen 1—3 kontraktile Vakuolen, leicht kenntlich durch ihre Größe und deutliche Abgrenzung gegen das übrige Plasma, mit ziemlich variabler Phasendifferenz. Das Intervall zwischen zwei Kontraktionen beträgt 30—40 Sekunden. Die übrige nutritorische Zone imponiert als ein Gemenge von Vakuolen von Primärälveolen- bis Kerngröße, mehr oder weniger mit Nahrung erfüllt. Letztere besteht vorwiegend aus Bakterien, doch werden auch Amöbencysten (die Kulturen werden sehr leicht durch kleine Vahlkampfen verunreinigt, mit deren Cysten die Luft meines Arbeitsraumes verpestet ist), falls ihr Durchmesser den der Schalenöffnung nicht allzusehr überschreitet, aufgenommen. Der Protoplast ist mit der Außenwelt durch den Pseudopodienkegel in Verbindung, eine Masse ziemlich homogenen Plasmas, von der die Pseudopodien nach allen Richtungen hin ausstrahlen. Letztere können alle Übergangsgrößen zwischen Lobo-Filopodien und Lamellen bilden; Anastomosen kommen nicht vor. Bezüglich Bewegung und Nahrungsaufnahme verweise ich auf frühere Darstellungen. Erwähnt sei

noch, daß bei allen von mir untersuchten *Chlamydothryx*-Spezies, am häufigsten allerdings bei *Chl. schaudinni*, Kannibalismus vorkommt, daß also Tiere (oder Cysten) der gleichen Spezies gefressen werden, wobei sich ein Tier zu Tode fressen kann, indem es ein Individuum zur Beute erwählt, welches so groß ist, daß es den Protoplasten des fressenden Tieres zu einem dünnen Wandbelag deformiert und schließlich den Kern zerquetscht (Fig. 33).

Teilung (Taf. 3 Fig. 3 a—j, 4 a—k). Der Beginn der Teilung wird gekennzeichnet durch Einziehen der Pseudopodien bis auf den Pseudopodienkegel, welcher sich abrundet. An seiner distalen Oberfläche ist er mit feinen Zöttchen besetzt, die bis zum Beginn der Zellteilung persistieren. Schon an dieser Stelle ist jedoch zu bemerken, daß die Untersuchung der fixierten Präparate uns zeigt, daß die ersten Veränderungen, die am Kern vor sich gehen (die Ausbildung der Chromosomen), sich zu einer Zeit abspielen, wo die Pseudopodien noch ausgestreckt sind. Die folgenden Veränderungen seien zunächst, soweit sie den Kern betreffen, geschildert. Das Caryosom streckt sich senkrecht zur Hauptachse der Schale etwas in die Länge, gleichzeitig kondensiert sich das Außenchromatin in der (zukünftigen) Äquatorialebene (Fig. 4 b). Das Caryosom streckt sich immer mehr, wird hantelförmig und verliert dabei an Deutlichkeit (Fig. 4 c u. d). Das Außenchromatin zeigt sich immer deutlicher als äquatorialer Ring, der bereits eine Sonderung in kleine Körnchen (Chromosomen) aufweist. Ist der Äquatorialring völlig ausgebildet, so ist das Caryosom bereits geschwunden, der Kern hat typische Spindelform angenommen (Fig. 4 e). In der nun folgenden Anaphase werden alle Strukturen undeutlicher. Der Äquatorialring teilt sich (Fig. 4 f), die beiden Hälften wandern rasch auseinander, die Differenzierung der Chromosomen ist verschwunden (Fig. 4 g). Der Kern, dessen Membran während der ganzen Teilung erhalten bleibt, streckt sich in die Länge und stellt sich dabei, während er zu Beginn der Anaphase quer zur Hauptachse des ganzen Tieres gestanden, allmählich parallel zu dieser ein (Fig. 3 d, 4 g u. h). Dabei ist eine Krümmung der Spindel, wie sie im fixierten Präparat zu sehen ist, nicht zu beobachten; sie ist als Kunstprodukt zu betrachten, hervorgerufen durch Kontraktion des Protoplasten. Die Hantelform des Kerns wird immer eklatanter, die Dehnung nimmt zu, wobei in den Endstücken der Hantel eine immer deutlicher sich ausprägende Ansammlung von Kernsubstanz sich bemerkbar macht. Wenn der sich teilende Kern in der Längsachse der Zelle steht, ist das Verbindungsstück zwischen



den Kernhälften auf einen dünnen Strang reduziert, der schließlich durchreißt (Fig. 4 i, j); die Ansammlungen von Kernsubstanz repräsentieren sich als längliche Massen, die quer zur Längsachse des Kerns stehen, sie runden sich später ab. Die Analyse der gefärbten Präparate lehrt uns, daß diese Ansammlungen in einem Stadium, wie es Fig. 4 h u. i zeigt, die Tochterplatten darstellen, im Stadium der Fig. 4 j hat man darin jedoch bereits das junge Caryosom des Tochterkernes zu erblicken, die Chromatinmassen sind bereits zur Peripherie abgeflossen und unsichtbar geworden. Die Kernteilung ist damit abgeschlossen.

Es bleiben noch die gleichzeitig im Plasma sich abspielenden Prozesse zu verfolgen. Schon in früher Prophase macht sich eine allmähliche Wanderung der Excretkörner gegen die Schalenöffnung zu bemerkbar (Fig. 3 b). Die Plasmaströmung, deren sichtbaren Ausdruck diese Körnchenwanderung darstellt, hält an. Sowie sich der Kern zu drehen beginnt (Fig. 3 d), macht die Chromidialkappe diese Drehung mit und drängt die Excretkörnerzone zur Seite. Schließlich, in dem Stadium knapp vor der Zellteilung, liegen die beiden Zonen, deren Trennungsebene vordem quer zur Hauptachse des Tieres gelegen war, die nutritorische und die Chromidialkappe ungefähr in die Längsachse eingestellt, parallel nebeneinander (Fig. 3 f). Bis zu diesem Zeitpunkt hat der kontrahierte Pseudopodienkegel an Volumen nur unwesentlich zugenommen. Sobald die Kernteilung vollendet ist, und der eine Tochterkern sich der Schalenwandung völlig genähert hat, setzt die Zellteilung eruptiv ein; der der Schalenöffnung zunächst liegende Kern wird durch diese hindurchgezwängt, in den Pseudopodienkegel hinein, ihm nach strömt das Plasma mit einem Ruck und dehnt dabei jenen zu einem eiförmigen Gebilde aus (Fig. 3 g), welches schließlich dieselbe Größe annimmt, wie das infolge Volumverlustes etwas kleiner gewordene Muttertier, welches man jetzt nur durch die etwas distinktere Schale von dem Tochtertier unterscheiden kann (Fig. 3 h). Sowie das Plasma in den Pseudopodienkegel hineinströmt, hineinspritzt möchte man beinahe sagen, bildet sich an seiner Oberfläche sofort eine Haptogenmembran, die sich rasch zu einer neuen Schale verdichtet. Die ganze Zellteilung spielt sich im Laufe von Bruchteilen von Sekunden ab, der Vorgang hat eine gewisse Ähnlichkeit mit der Bildung von Bruchsackpseudopodien bei einer sehr lebhaften Amöbe. Hierbei vollzieht sich eine völlige Durchmischung des Protoplasmas — Chromidialkappe, Excretkörnerzone und nutritorische Region sind wirr durch-

einandergeraten —, der die Entmischung auf dem Fuße folgt.<sup>1)</sup> Sowie letztere einen gewissen Grad von Vollkommenheit erreicht hat, schwillt der dünne Strang nackten Protoplasmas, der die beiden Tochtertiere verbindet, etwas an, es bilden sich an dieser Stelle Pseudopodien aus und die Tiere beginnen sich zu trennen (Fig. 3j). Die pulsierende Vakuole stellt ungefähr im Stadium der Fig. 3a ihre Kontraktionen ein, nach Vollendung der Zellteilung (Fig. 3j) sieht man in jedem Tochtertier ein bis zwei neue Vakuolen ihre Tätigkeit wieder aufnehmen. Die Dauer des ganzen Teilungsvorganges beträgt im Durchschnitt (bei Zimmertemperatur) 20 Minuten; die genaueren Daten sind auf Taf. 3 ersichtlich.

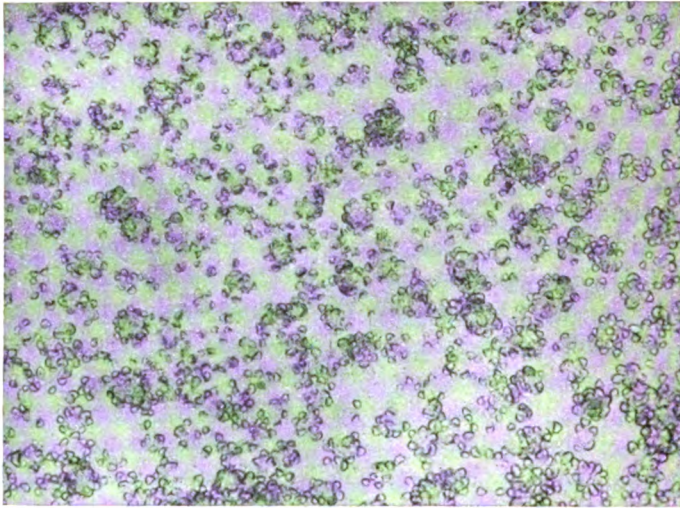
Ich sagte oben: „— und die (Tochter-)Tiere beginnen sich (nach vollendeter Zellteilung) zu trennen.“ Dies gilt für Bedingungen, unter denen dies möglich ist. Ist dies nicht der Fall, tritt also Platzmangel ein (in alten überfüllten Kulturen) oder ist der Agar zu fest (0,75—1 Proz.), so daß die Bewegung stark gehemmt wird, so bleiben die Tochtertiere beisammen und können zweierlei Gebilden Ursprung geben; den weiter unten behandelten Plasmogamien oder den Rosettenkolonien (Textfig. A). Letztere sind eine für jede auf Agar kultivierte Thecamöbe typische Art der Kolonienbildung. Wir werden bei *Pamphagus* etwas Entsprechendes für flüssige Medien kennen lernen (dort besteht die Möglichkeit einer dreidimensionalen Ausbreitung der Individuen, die die Kolonie bilden; auf der Agarplatte ist sie meist nur zweidimensional). Die Genese der Rosette ist leicht verständlich, sie sei daher hier nur kurz angedeutet. Gehen wir von zwei eben geteilten Tochtertieren aus, die mit den Pseudopodienkegeln vereint bleiben. Teilen sie sich wieder, und zwar nicht synchron (dies ist sehr wesentlich!), so bilden sie ein Kreuz usw., bis zu 8—10zelliger Rosetten (Fig. 2). Tritt weitere Zellteilung ein, so haben die neuen Tiere in der Ebene nicht mehr Platz und müssen sich in der dritten Dimension ausbreiten, geraten dadurch in allzu nahe Berührung mit der Luft und das Resultat

---

<sup>1)</sup> Diese Schilderung bezieht sich auf die Verhältnisse im hängenden Tropfen. Auf der Agarplatte vollziehen sich alle Teilungsphänomene in genau derselben Weise, bis auf die Zellteilung. Diese geht nicht plötzlich, sondern ganz allmählich vor sich, das Protoplasma strömt im Verlauf von 50—80 Sekunden in die Teilungsknospe hinüber. Der Zusammenhang mit den Bedingungen, die durch die Agarplatten gestellt werden, ist klar; der mechanische Widerstand, den die Oberflächenspannung der dünnen Wasserschicht, die die Agaroberfläche überzieht, der Ausdehnung der Teilungsknospe entgegengesetzt, verzögert die Geschwindigkeit des Prozesses.

ist Cystenbildung. Die Rosettenbildung ist meist mit Plasmogamie kombiniert. Die mannigfachen Degenerationsformen, die sich auf alten Kulturen finden, zu beschreiben, kann nicht meine Absicht sein; etwas prinzipiell Wichtiges kommt bei deren Studium nicht heraus.

Teilungsrates. *Chlamydophrys minor* vermehrt sich auf geeignetem Nährboden ziemlich rasch, die Teilungsrates ist natürlich von verschiedenen Faktoren abhängig, von denen nur einige analysiert werden konnten, die Ergebnisse sind nicht das Resultat eigens angestellter Experimente, sondern wurden nur nebenher gewonnen. Ein Faktor ist das Nahrungsquantum, daher nimmt die Teilungsrates mit dem Bakterienreichtum der Agarplatte zu (in aufsteigender Reihe



Textfig. A. *Chlamydophrys minor*. Rosettenkolonien.  
12 Tage alte Kultur auf 0,5 KNOP-Agar alk. Vergr. 150  $\times$ .

entspricht das folgenden Nährböden: Wasseragar, Knopagar, Knopagar alkalisiert, Amöbenagar), aber nur bis zu einer gewissen Grenze, auf Amöbenagar von zu hohem Nährstoffgehalt ist das Bakterienwachstum meist so üppig, daß sich störende Wirkungen desselben bemerkbar machen. Ebenfalls unter diesem Gesichtspunkt ist die Zunahme der Teilungsrates bei abnehmender Agarkonzentration zu betrachten, am höchsten ist sie, wie schon oben auseinandergesetzt, im hängenden Tropfen. Je stärker die Bewegungsmöglichkeit (der zweite Faktor ist also Konsistenz des umgebenden Mediums) desto reger der Stoffwechsel und die Möglichkeit, sich das hierzu nötige Betriebsmaterial

zu verschaffen. Der dritte Faktor ist Temperatur. Die Kulturen wurden fast durchweg bei Zimmertemperatur gehalten ( $16^{\circ}\text{C}$ ), nur gelegentlich wurden einige in einen Thermostaten bei  $21^{\circ}$  gestellt und es zeigte sich hierbei eine Erhöhung der Teilungsrate um ca. 30 Proz. Im folgenden drei festgestellte Teilungsraten: 1. im hängenden Tropfen Intervall zwischen zwei aufeinanderfolgenden Teilungen 3—8 Stunden, im Durchschnitt 5 Stunden; 2. auf 5proz. alkalisiertem Knopagar in frisch angelegter Kultur 9—14 Stunden, im Durchschnitt 12 Stunden (Zimmertemp.); 3. desgl. bei  $21^{\circ}\text{C}$ : 6—10 Stunden, im Durchschnitt 7 Stunden.

Schon an dieser Stelle soll auf zwei Erscheinungen hingewiesen werden, die oben nicht ausdrücklich erwähnt wurden, weil sie uns erst am Schluß beschäftigen werden. 1. Die eigentümliche Änderung der Schalenform, die schon in den ersten Stadien der Teilung zu konstatieren ist. Während die Schale sonst birnförmig ist, nimmt sie mit Beginn der Teilung elliptische Gestalt an (vgl. Fig. 3h mit Fig. 1). 2. Die Summe der Vakuolenzahl in den beiden Tochtertieren nach der Zellteilung ist annähernd doppelt so groß wie die des Muttertiers.

**Encystierung.** Sobald eine Kultur ein gewisses Alter erreicht hat, encystiert sich die überwiegende Mehrzahl der Individuen. Die auslösenden Faktoren sind offenbar Stoffwechselprodukte der Tiere selbst und der Begleitbakterien, weniger in Trockenheit zu erblicken, da die Encystierung auch im hängenden Tropfen nach 3—4 Tagen eintritt (Fig. 6a—i). Die Pseudopodien werden frühzeitig eingezogen, die Nahrungsaufnahme sistiert und der Protoplast beginnt sich innerhalb der Schale zu kontrahieren; letztere behält ihre ursprüngliche Form lange Zeit bei, wird aber später deformiert, unterliegt wohl auch teilweise der Desorganisation und umgibt schließlich die fertige Cyste als dünnes, etwas faltiges Häutchen. Der Protoplast nähert sich immer mehr der Kugelform, scheint dabei an Volumen einzubüßen und scheidet an seiner Oberfläche sehr allmählich eine Membran ab, die sich allmählich verdickt und bräunt. Im Innern des Protoplasten nehmen die Excretkörner stark an Zahl zu, überschreiten schließlich ihren Bereich und erfüllen die jetzt ganz vakuolenarm gewordene nutritorische Region. Die kontraktile Vakuole stellt ungefähr in dem der Fig. 6d entsprechenden Stadium ihre Tätigkeit ein. Der Kern büßt auch etwas von seinem Volumen ein, speziell das Caryosom. (Der soeben geschilderte Vorgang sowie die auf der Tafel angegebenen Zeiten beziehen sich auf die Verhältnisse im hängenden Tropfen.)

Die fertige Cyste zeigt uns Fig. 5 nach dem Leben. Man sieht, daß die Chromidialkappe von den Excretkörnern frei geblieben ist. Die Konturen des Kerns sind undeutlich geworden, offenbar eine Folge des geringen Wassergehaltes und der abnehmenden Brechungsunterschieden des Protoplasten. Fixiert und gefärbt zeigt der Kern deutliche Kernmembran und Verdichtung des Chromatins zu größeren Brocken (Fig. 7, 8). Die Excretkörner zeigen im Vergleich mit Fig. 1 z. T. eine erhebliche Größenzunahme. Die Cysten sind oft zu kleinen Häufchen durch ihre äußeren Hüllen (die Schalenreste) und die daran haftenden Bakterien verklebt. Die Cystenhülle gibt Pseudochitinreaktion.

Läßt man die Agarplatte völlig eintrocknen, so wird die Lebensfähigkeit der Cysten dadurch keineswegs beeinträchtigt (Trockenheit bis zu 2 Monaten beobachtet). Das Wiederauskriechen der Tiere kann man leicht durch Aussäen der Cyste auf stark feuchten frischen Agar bewirken. Man sieht oft erst nach Tagen die Reaktion auf die geänderten Lebensbedingungen eintreten (Fig. 9 a—f). Der Protoplast quillt allmählich und dehnt hierbei die Cystenhülle (für die man wohl auch Quellung annehmen muß) etwas aus (Fig. 9 b). Man bemerkt eine ziemlich rapide Abnahme der Excretkörner. Sodann beginnt der Protoplast innerhalb der Hülle träge zu rotieren (Fig. 9 c) — die Excretkörner sind auf eine schmale Zone reduziert — und sprengt sie schließlich; durch den Riß tritt das bereits deutlich polar differenzierte (Beschränkung der Pseudopodienbildung auf eine Stelle!), obschon noch nackte Tier aus (Fig. 9 d), nimmt vorläufig kugelige Gestalt an und beginnt seine Kriech- und Freßtätigkeit. Ziemlich allmählich wird die normale Birnform angenommen und eine neue Schale ausgeschieden (Fig. 9 f). Erst dann beginnt nach ca. 6—8 Stunden die Fortpflanzung durch Teilung.

Obige Befunde scheinen mir einiges Licht auf die Bedeutung der „Excretkörner“ zu werfen. Ich habe bisher diesen Ausdruck gebraucht, weil er eingebürgert ist. Doch sind es keine Excretsondern Reservestoffe<sup>1)</sup>, wie aus ihrem ganzen Verhalten bei En- und Excystierung hervorgeht: bei der Encystierung vermehren sie sich rapid (werden also gespeichert), und schwinden vor und während des Ausschlüpfens aus der Cyste (werden also offenbar verbraucht). Wofür sie verbraucht werden, darüber kann man natürlich nur vage Vermutungen äußern; für die Schalenbildung keineswegs, wie man

<sup>1)</sup> Vgl. andere Cysten, z. B. Algenzygoten und die Volutinreaktion der entsprechenden Körner bei *Pamphagus* (s. u.) und *Rhogostoma*.

nach Analogie von anderen Thecamöben vielleicht denken möchte, da der Abbau lange vorher beginnt und bei der Zellteilung keine entsprechende Abnahme zu konstatieren ist. Ob sie mit den „Phäosomen“ (RHUMBLER) anderer Thecamöben homolog sind, ist nicht ganz sicher, doch scheint es mir vorläufig angebracht, diesen unverbindlichen Ausdruck hier anzuwenden. In fixierten Präparaten sind sie meist unsichtbar geworden, nach Fixierung mit Sublimatalkohol und Färbung mit Biondi (s. o.) werden sie jedoch schmutziggelb (Fig. 7 u. 57).

Andererseits kommen wirkliche Excretkörner, aber nur selten, bei allen *Chlamydothryx*-Arten vor, kleine, bräunliche Kristallnadeln, mit den Phäosomen vermischt, die im Canadabalsam-Präparat scharf hervortreten (Fig. 56 u. 75). Es kann auch manchmal beobachtet werden, wie ein kleines Klümpchen dieser Kristalle ausgestoßen wird, besonders kurz nach dem Ausschlüpfen aus der Cyste.

#### 4. *Chlamydothryx schaudinni* H. SCHÜSSLER.

Diese Form, über die die vorläufige Mitteilung SCHÜSSLER'S vorliegt, erscheint am geeignetsten, um in die Cytologie des Genus *Chlamydothryx*, speziell der Kernteilung, einzuführen. Der Habitus ist aus Fig. 32 zu ersehen. Längster Schalendurchmesser 24—28  $\mu$ . Typische zonare Gliederung des Protoplasmas. Die Schale tritt deutlich hervor. Die Chromidialkappe<sup>1)</sup> färbt sich mit Alaunhämatoxylin tiefblau, ist alveolär strukturiert und zwar stoßen die Alveolen nicht hart aneinander, sondern haben kreisförmigen Umriß, ein für alle *Chlamydothryx*-Arten charakteristisches Verhalten. Ebenfalls charakteristisch für *Chlamydothryx* sind zwei helle Stellen an der Peripherie seitlich vom Kern, die im Leben nie, dagegen stets im fixierten Präparat zu sehen sind, optische Querschnitte einer ringförmigen Zone, die offenbar durch die Fixierungsmittel sehr leicht zum Schrumpfen gebracht wird. Man findet diese Struktur bei jeder näher beschriebenen *Chlamydothryx*-Art wieder (Fig. 76).

Der Kern zeigt alveoläres Außenchromatin und ein kompaktes Caryosom, welches zeitweilig eine oder mehrere Vakuolen im Innern ausbildet.

Bevor ich zur Schilderung der Kernteilung nach fixierten Präparaten übergehe, sei bemerkt, daß diese (nach mündlicher Mitteilung von Prof.

---

<sup>1)</sup> Der Ausdruck Chromidialkappe wird in dieser Arbeit ganz unverbindlich verwendet.

HARTMANN) von SCHÜSSLER am lebenden Tier beobachtet worden ist, in einer Vollständigkeit, die meine später mitgeteilten Befunde an *Pamphagus hyalinus* noch übertroffen hat, da auch die Spindelfasern sichtbar waren. Leider existieren keine Zeichnungen davon.

Der Beginn der Prophase wird gekennzeichnet durch die Ansammlung färbbarer Substanz in den Knotenpunkten des alveolären Außenkerns, die immer mehr zunimmt, die einzelnen Granula breiten sich aus und verbinden sich schließlich zu einem deutlichen Spirem, wodurch die Alveolenstruktur verschwindet (Fig. 10, 11, 12). Ob das Spirem zunächst als zusammenhängender Faden angelegt wird oder ob gleich getrennte Chromosomen ausgebildet werden, entzieht sich der Beurteilung, doch neige ich mehr zu letzterer Annahme. Die Chromosomen werden immer deutlicher, d. h. dicker und kürzer (in diesem Stadium beginnt die Kontraktionsphase des Cytoplasmas), worauf sich das Caryosom in die Länge streckt, dadurch die spätere Spindelachse markierend (Fig. 14). Die Chromosomen drängen sich im Äquator immer mehr zusammen und umgeben schließlich das hantelförmige Caryosom als Äquatorialring (Fig. 16). Jetzt beginnt die Auflösung des Caryosoms. Es verliert nach und nach seine Färbbarkeit und zerfällt in kleine Krümel und Brocken, die allmählich verschwinden (Fig. 17, 18 u. 19). Am längsten bleiben sie an den Polen der um dieselbe Zeit sich deutlich differenzierenden Spindel erhalten (Fig. 19). Durch den Schwund des Caryosoms wird den Chromosomen Platz gemacht, die sich im Spindeläquator zur Äquatorialplatte anordnen (Fig. 20, 21). Das zeitliche Zusammenfallen von Caryosomschwund und Auftreten der Spindelfasern ließe es plausibel erscheinen, daß diese Vorgänge im kausalen Zusammenhang stehen, daß mit anderen Worten die Spindelsubstanz — die lokomotorische Komponente — aus dem Caryosom hervorgeht. Der später zu beschreibende aberrante Teilungsmodus zeigt jedoch, daß dem nicht so ist.

Ob in der nun folgenden Anaphase die Chromosomen der Länge nach oder der Quere nach geteilt werden, konnte ich nicht entscheiden, jedenfalls läßt sich auf den vorhergehenden Stadien nie auch nur eine Andeutung von Längsteilung konstatieren. Hingegen sah ich in einem einzigen Präparat (Fixierung nicht angegeben, Färbung: Alaunkarmin) fast auf allen Prophasenstadien die Chromosomen als Doppelkörnchen auftreten (Fig. 13). Auf die Frage Längs- oder Querteilung der Chromosomen werde ich am Schlusse der Arbeit noch zurückkommen.

Die Tochterplatten weichen auseinander, bis das Stadium der

Fig. 22, 23 erreicht ist, auf dem die allmähliche Einstellung der Spindel in die Längsachse des Tieres erfolgt (Fig. 35). Jetzt verlassen die Chromosomen ihre Lage in der Tochterplatte und beginnen an der Kernmembran, die während der ganzen Kernteilung erhalten bleibt, gegen die Spindelpole hin zu wandern (Fig. 24, 25). Die Struktur der Spindel schwindet allmählich (am längsten bleibt sie im Mittelstück erhalten), die Chromosomen erfüllen auf dem Hantelstadium des Kerns die angeschwollenen Enden der Figur, mehr oder weniger gleichmäßig verteilt (Fig. 26, 27). Das Mittelstück der Spindel wird immer dünner und reißt schließlich durch (Fig. 27). Die Tochterkerne, die zunächst noch in ihrer Form die Spindel etwas markieren, platten sich ab. Nunmehr sieht man zwischen den Chromosomen kleine Körnchen auftreten (Fig. 27), die allmählich größer werden (Fig. 28), zusammenfließen (Fig. 29, 30) und schließlich einem neuen Caryosom den Ursprung geben. Gleichzeitig verlieren die Chromosomen an Deutlichkeit und gehen in die Alveolensysteme der Tochterkerne über. Das junge Caryosom ist anfänglich längs gestreckt — quer zur früheren Spindelachse (Fig. 30) — und nimmt allmählich wieder Kugelform an, womit die Kernteilung beendet ist (Fig. 31).

Die Zellteilung zu beschreiben, erscheint überflüssig, da sie mit der von *Chl. minor* vollkommen übereinstimmt und am lebenden Objekt viel vollständiger zu verfolgen ist; erwähnt sei nur, daß die Durchmischung der Plasmazonen an der strangartigen Zerreißen der Chromidialkappe auch im Präparat deutlich zu sehen ist. Ferner — und darauf werde ich am Schluß zurückkommen — daß die Chromidialkappe von Tieren, die sich vor der Zellteilung befinden, sich wesentlich heller färbt, als bei den „ruhenden“ Tieren, auch heller als die „Stränge“ knapp nach erfolgter Zellteilung.

So der normale Verlauf der Kernteilung. Daneben kommt aber ein zweiter Modus vor, den schon SCHÜSSLER in seiner vorliegenden Mitteilung erwähnt. Er ist dadurch charakterisiert, daß das Caryosom während des ganzen Verlaufs der Kernteilung erhalten bleibt. Es zerfällt zwar meist — und dies oft schon in der Prophase — in mehrere Brocken (eine Hantelbildung unterbleibt in den meisten Fällen), welche zunächst an die Spindelpole rücken (Fig. 38, 40) — auch hier sehen wir eine Art attraktiver Wirkung der Spindelpole, wie später bei *Rhogostoma* — in der Anaphase meist jedoch in den Spindeläquator zu liegen kommen (Fig. 41) und schließlich mehr oder weniger willkürlich auf die beiden Tochterkerne verteilt werden, wo sie sich zu neuen Caryosomen vereinigen



(Fig. 44, 46, 47). Die zweite Eigentümlichkeit dieses Teilungstypus ist die Gestalt der Spindel, speziell in der Anaphase. Während bei der typischen Mitose die leicht zugespitzten Spindelpole bis in das Stadium der beginnenden Telophase hinein die Form des Kernes beeinflussen, ist letztere hier stets rundlich, die Spindel ist in der Metaphase oft queroval (Fig. 40) — und die Durchschnürung des Kernes erfolgt nicht durch eine scharf abgesetzte Verjüngung des Spindelmittelstückes, sondern der Kern wird hantelförmig, ganz regelrecht „amitotisch“ auseinandergezogen. Der Vergleich der Figuren 36—47 mit den entsprechenden Stadien (Fig. 12—31) läßt diese Unterschiede besser erkennen als eine Beschreibung mit Worten. Die dritte Abweichung betrifft die Zellteilung. Während bei der typischen Zellteilung die Länge der Teilungsknospe zur Zeit, wo die Kernteilung auf dem Stadium der Metaphase sich befindet, ungefähr  $\frac{2}{3}$  der Länge der Mutterzelle beträgt, kommt sie bei dem aberranten Typus an Größe der Mutterzelle fast gleich, übertrifft sie sogar manchmal (vgl. Fig. 42, 43 mit Fig. 76, die allerdings *Chlamydothryx major* darstellt, welche Form jedoch in dem hier interessierenden Punkt mit *Chlamydothryx schaudinni* völlig übereinstimmt). Ferner setzt der Transport des für die Knospe bestimmten Tochterkernes oft schon ein, bevor noch die Kernteilung beendet ist (Fig. 43). Man wäre geneigt zu glauben, daß es sich hier um verschiedene Arten handelt, um so mehr, als sich im SCHÜSSLER'schen Nachlaß mehrere Präparate — Klatschpräparate von Agarkulturen — fanden, in denen nur diese Teilungsfiguren zu finden waren. Das Vorkommen in anderen Präparaten wäre dann auf Mischkultur zurückzuführen. SCHÜSSLER hat darüber keine definitive Entscheidung hinterlassen. Ich bin jedoch zu dem Schlusse gekommen, daß die Tiere, die diesen Teilungstypus zeigen, pathologisch veränderte Exemplare von *Chlamydothryx schaudinni* sind. Trotzdem die Nachprüfung dieser Ansicht durch das Kulturverfahren unmöglich, kann ich sie durch Folgendes stützen.

Erstens finden sich alle möglichen Übergänge zwischen der typischen *schaudinni*-Mitose und dem aberranten Typus. Einige sind in Fig. 48, 49 abgebildet. Zweitens ist der atypische Modus (und nur dieser!) oft mit unverkennbaren Degenerationssymptomen sowohl des Kernes (Fig. 50—53) als auch der Zelle verknüpft, die schon in der großen Variabilität der zeitlichen Verknüpfung von Caryosomzerfall, Spindelbildung und Kernzerschnürung angebahnt erscheinen; ungleiche Verteilung der Chromosomen, Unterbleiben der Zellteilung, erhebliche Deformierung sowohl der Mutterzelle als auch der

Teilungsknospe sind dann die weiteren Schritte. (Unter den nachgelassenen Zeichnungen SCHÜSSLER's fanden sich zwei, deren Originale ich in den Präparaten wiederfand, in Präparaten, welche nur den aberranten Teilungstypus enthielten: Fig. 54, 55; typische Degenerationsformen).

Wodurch diese Modifikation der Kernteilung hervorgerufen wird, vermag ich natürlich nicht zu sagen. Wahrscheinlich ist sie eine Folge der Kultivierung auf Agar, da sie nur in Präparaten von Agarplatten (SCHÜSSLER kultivierte *Chlamydothryx schaudinni* außerdem auch auf Kaninchenkot) zu beobachten ist.

Der Darstellung dieses aberranten Typus wäre kein so großer Raum gegönnt worden, wenn sich nicht einige Folgerungen daraus ziehen lassen könnten. Erstens zeigen uns obige Befunde, daß das Caryosom mit der lokomotorischen Komponente in diesem wie in vielen anderen Fällen nichts zu tun hat (contra DOFLEIN); die Spindelfasern bilden sich, trotzdem die Caryosomsubstanz zur Gänze erhalten bleibt, im Außenkern aus. Zweitens liegt hier wieder ein Fall vor, wo beginnende Degeneration und Annäherung an die Amitose Hand in Hand gehen. Man kann aus den Teilungsbildern ganz gut eine Abnahme der formgebenden Wirkung des lokomotorischen Strukturkomplexes zugunsten der Grenzflächenkräfte ablesen, die bei zunehmender Degeneration die Annäherung an die, man möchte fast sagen „typische Amitose“ immer schärfer hervortreten läßt.

Cysten, die mit Bestimmtheit als zu *Chlamydothryx schaudinni* gehörig hätten erkannt werden können, fanden sich nicht vor; im Nachlaß SCHÜSSLER's fand sich nur eine Zeichnung, die in Fig. 34 wiedergegeben ist, aber offenbar keine typische Cyste darstellt.

##### 5. *Chlamydothryx major* n. sp.

Die zweite der in SCHÜSSLER's Präparaten vorkommenden Formen braucht nur kurz beschrieben zu werden, da sie, wie die Abbildungen erkennen lassen, sich prinzipiell ebenso verhält, wie *Chlamydothryx schaudinni* u. *minor*. Längster Schalendurchmesser 18—22  $\mu$ . Morphologie der ruhenden Zelle wie bei den vorhergehenden Formen (Fig. 74, 75). Die Kernteilung (Fig. 77a—q) verläuft im allgemeinen nach dem *schaudinni*-Typus, nur macht sich der formbestimmende Einfluß der lokomotorischen Komponente auf die Gestalt der sich teilenden Kerne stärker geltend. Sonstige Unterschiede gegenüber

*Chlamydothrys schaudinni*: geringere Größe, mehr rundliche Gestalt der Schale. Cysten unbekannt.

### 6. *Chlamydothrys parva* n. sp. (SCHÜSSLER).

(Fig. 66—73.)

Ferner fanden sich ca. 10 Präparate einer noch kleineren Form, die in SCHÜSSLER'S hinterlassenen Notizen als *Chlamydothrys parva* bezeichnet wird.<sup>1)</sup> *Chlamydothrys parva* unterscheidet sich von den vorhergehenden Formen durch viel geringere Größe, fast vollkommen kugelförmige Gestalt, dicke Schale und die Kernteilung. Letztere verläuft im Prinzip ähnlich wie bei den bisher behandelten Formen: Chromosomenbildung im Außenkern, Streckung und Auflösung des Caryosoms, stumpfpolige Spindel. Jedoch stellt sich die Spindel von vornherein zur Schalenachse nicht quer, sondern schräg ein (Fig. 68, 69). Der zweite Unterschied: Zuspitzung der Spindelpole in der Anaphase (Fig. 71) ist bedeutungslos. SCHÜSSLER hat die Form offenbar deshalb als „*stercorea*?“ bezeichnet, weil bei *Chlamydothrys stercorea* sich die Spindel von vornherein parallel zur Schalenlängsachse einstellt; obwohl die beiden Formen natürlich nicht identisch sind (*Chlamydothrys stercorea* ist vor allem um vieles größer). Wenn man die weiter unten folgenden Ausführungen über den Zusammenhang von Längs- und Querteilung bei Thecamöben mit der Schalenkonsistenz in Betracht zieht, so wird dieser Zusammenhang durch die Teilung von *Chlamydothrys parva* noch wahrscheinlicher gemacht, denn von allen hier beschriebenen *Chlamydothrys*-Arten hat diese Form die dickste und formbeständigste Schale.

Die Cysten (Fig. 78, 79) weichen in nichts von dem gewöhnlichen Typus ab; die radiären Stäbchen an der Peripherie sind Bakterien.

---

Zum Schluß eine kurze Diagnose des Genus *Chlamydothrys*: Thecamöben mit dünner strukturloser Schale und kreisrunder Schalenöffnung, deutlicher Formgliederung des Protoplasten in nutritorische Region und Chromidialkappe, beide getrennt durch die Phäosomenschicht. Filo- oder Rhizopodien, Kern in der Chromidialkappe ge-

<sup>1)</sup> Zum Teil als „*Chlamydothrys stercorea*?“; wir werden sehen, warum!

legen, bläschenförmig, mit kompaktem Caryosom. Vermehrung durch Knospungsteilung. Mitose spielt sich innerhalb der Kernmembran ab und ist charakterisiert durch eine tonnenförmige Spindel und Ausbildung der Chromosomen an dem Außenkern. Cystenbildung intrathalam. Befruchtung durch zweigeißelige Isogameten. Bisher 5 gut erkennbare Arten:

*Chlamydothryx stercorea* CIENK. Größe 30—40  $\mu$ . Schale breit-birnförmig mit deutlich abgesetztem Hals, Kontinuität des Caryosoms bei der Kernteilung; die Spindel stellt sich von Anfang an parallel zur Schalenlängsachse ein. Sexualität bekannt.

*Chlamydothryx schaudinni* SCHÜSSLER: Größe 24—28  $\mu$ . Schale breit-birnförmig, Caryosom wird bei der Kernteilung aufgelöst; Spindel stellt sich anfangs quer zur Schalenlängsachse ein; ca. 30 Chromosomen.

*Chlamydothryx parva* SCHÜSSLER: Größe 15—17  $\mu$ . Schale ziemlich dick, fast kugelig. Kernteilung wie bei der vorhergehenden Art, die Spindel stellt sich schräg zur Schalenlängsachse ein.

*Chlamydothryx major* BELAË: Größe 18—22  $\mu$ . Schale breit-birnförmig. Kernteilung wie *Chlamydothryx schaudinni*. Etwas spitzere Spindelpole; ca. 30 Chromosomen.

*Chlamydothryx minor* BELAË: Größe 15—17  $\mu$ . Schale sehr dünn, lang, birnförmig, Kernteilung nach dem *schaudinni*-Typus; ca. 15 Chromosomen.

Die Maße sind nach dem fixierten Präparat angegeben.

(*Chlamydothryx grata* BREUER hat auszuschneiden, da sie sich längsteilt, eventuell könnte man für diese Form das Genus *Leptochlamydothryx* aufstellen.)

### 7. *Rhogostoma schüssleri* n. gen. n. sp.

Die Form entstammt einer Faulkultur aus dem Grunewaldsee von der zwei Agarplatten ursprünglich zu anderen Zwecken (Colpidienkulturen zur Fütterung von Turbellarien) beimpft wurden, auf denen nach 2 Tagen die Thecamöben in großer Zahl bemerkbar wurden.

Am besten gedieh *Rhogostoma* auf neutralisiertem KNOP-Agar. Auf festeren Nährböden stellte sie das Wachstum alsbald ein, ein Zusammenhang mit der Konsistenz der Schale wird bald einleuchten. Die Teilungsrate ist anfangs enorm. In den ersten 48 Stunden nach

der Anlage einer neuen Platte teilt sich jedes Individuum durchschnittlich alle 4—5 Stunden. Am dritten Tage (manchmal auch später; die Teilungsrate hängt natürlich von dem nicht kontrollierbaren Bakterienwachstum ab) stellt sich auf der Platte Platzmangel ein; es bilden sich zunächst Rosetten (Fig. B) wie bei *Chlamydothrix*, dann treten die unten beschriebenen Übergangsformen auf und in einer Woche ist die ganze Kultur mit Ausnahme einiger weniger Überbleibsel in die Dauerform übergegangen. Diese kann nun beliebig lange auf der Agarplatte verharren. Plasmogamieerscheinungen wurden nicht beobachtet, bloß gelegentliches Unterbleiben der Zellteilung nach der Kernteilung, wodurch zweikernige Tiere entstehen, die der Degeneration anheimfallen. Damit ist auch schon der Teil des Entwicklungskreises, der bis jetzt bekannt ist, gegeben und soll im folgenden beschrieben werden. Bei Herstellung von Präparaten erwies sich als besonders gut Pikrinessigsäure mit nachfolgender DELAFIELD-Färbung; es sei hier nochmals betont, daß bei sorgfältiger Technik jede der von mir angewandten Methoden fast dieselben Resultate gibt; es sind auch hier die Figuren mehr oder weniger wahllos aus verschiedenen behandelten Präparaten zusammengestellt.

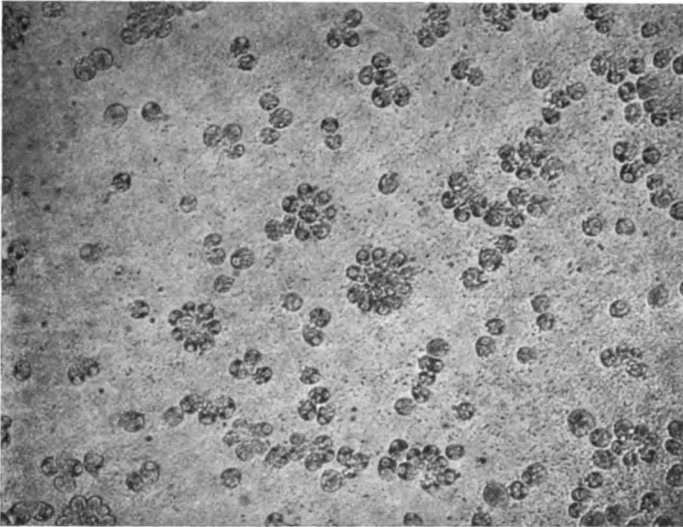
Die Größe der vegetativen Individuen in einer frischen Kultur beträgt  $14 \mu$  im Durchschnitt. Die Grenzen sind  $12$  und  $15 \mu$ . Die Schale besitzt zweistrahliges Symmetrie; eine Betrachtung der Fig. 80—83 erspart jede unzulängliche Schilderung in Worten.

Um die Orientierung zu erleichtern, sei festgelegt: in Fig. 85 ist das Tier von der Schmalseite, in Fig. 80, 81 von der Breitseite (Seite schlechthin), in Fig. 82 von der Mundseite, in Fig. 83 von der Kernseite gesehen, dargestellt. Infolge dieses Baues bekommt man das Tier meistens nur von der Seite zu sehen, es liegt auch mit ihr der Agaroberfläche auf. Die Schalenöffnung ist spaltförmig (daher der Genusname). Von ihren beiden Enden ziehen sich seichte Furchen auf die Breitseite bis in ein Drittel der Höhe der ganzen Schale hinauf (Fig. 82, 84). Die Schale ist sehr dünn und gesondert nur mittels natürlicher Plasmolyse — hervorgerufen durch langes Halten im hängenden Tropfen — nachzuweisen. Behandlung mit hochkonzentrierter Rohrzuckerlösung führt nur zu Schrumpfung des Protoplasts, ohne daß er sich von der Schale löst. Beim Zerquetschen der Tiere bleibt sie als ein zartes faltiges Häutchen zurück und kann mit Neutralrot oder sonst einem beliebigen Vitalfarbstoff dargestellt werden.

Der Protoplast zeigt die zonare Gliederung der Thecamöben.

1. Kernzone; der Kern hat ein homogenes Caryosom und ebensolchen Außenkern. Bemerkenswert ist ein schmaler, heller Hof, der das Caryosom umgibt (Fig. 80, 81) und uns lehren kann, daß nicht jeder Hof im fixierten Präparat unbedingt als Artefakt und Schrumpfungsergebnis zu bezeichnen ist. Im Präparat ist nicht mehr zu sehen als im Leben, höchstens eine zarte Kernmembran nachzuweisen.

2. Zone der Phäosomen. Sie findet ihre obere Begrenzung durch den Kern und die Schale. Diese Zone besteht aus einem feinwabigen Plasma, welches von gelblichen, stark lichtbrechenden Körnchen, Kügelchen und Kristalloiden — alles Erscheinungsformen ein und derselben Substanz, die scheinbar mit der der Phäosomen von *Chlamydo-phrys* identisch ist — dicht erfüllt ist. Bei schwacher Vergrößerung

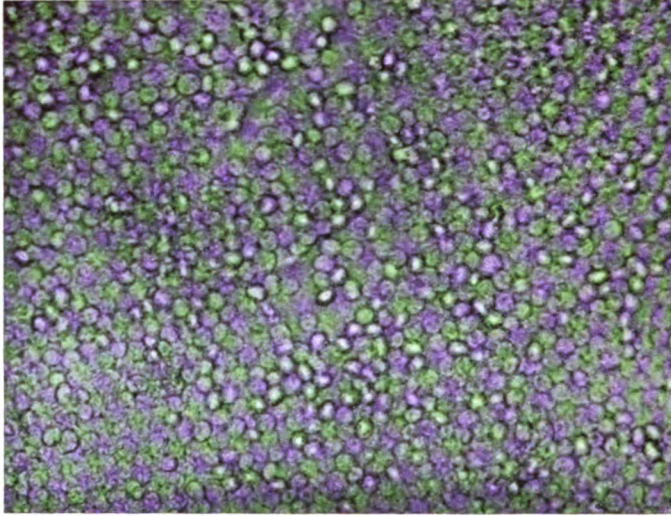


Textfig. B: *Rhogostoma schüssleri*.

4 Tage alte Kultur auf KNOP-Agar alk. 0,5 Proz. Vergr. 150 X.

erscheint diese Zone schwärzlich getüpfelt und läßt deutlich einen hellen Hof — den Kern — frei (s. Textfig. B). Nach unten ist diese Zone nicht scharf begrenzt, sondern geht in die nutritorische Region allmählich über, doch reichen ihre Ausläufer nie über die obere Grenze der Schalenfurche herab. Im fixierten Präparat präsentiert sich Zone 2 als Chromidialzone; die Phäosomen sind verschwunden, an ihrer Stelle findet man Vakuolen, umgeben von einem stark färbaren alveolären Plasma (auch hier vermag BIONDI- oder DELAFIELD-Färbung die Phäosomen gelegentlich darzustellen).

3. Verdauungszone, unterscheidet sich in nichts von der anderer Thecamöben bis auf die weiter unten beschriebene Zentralzone. Die zwei kontraktile Vakuolen liegen an der Schalenwand in den Ausbuchtungen des Protoplasten, die zur Seite der Schalenöffnung liegen. Sie arbeiten manchmal synchron, manchmal alternierend; dazwischen



Textfig. C. *Rhogostoma schüssleri*. Dieselbe Kultur, wie auf Textfig. B abgebildet, nach 3 Wochen photographiert. Vergr. 150  $\times$ .

gibt es alle Übergänge. Eine völlige Entleerung der Vakuolen findet nie statt. Die Zeitdauer zwischen zwei Kontraktionen beträgt 30 bis 40 Sekunden. Die Arbeitsweise läßt sich am besten aus Textfigur D erkennen.



Textfig. D. *Rhogostoma schüssleri*. Kontraktile Vakuole in 6 Phasen nach dem Leben skizziert. Vergr. 1700  $\times$ .

Aus der Schalenöffnung treten die Pseudopodien heraus. Ein eigener Pseudopodienstiel oder -kegel ist nicht vorhanden, die Pseudopodien trennen sich gleich nach dem Austritt aus

der Schale. Es sind typische Filopodien, ohne Anastomosen, dagegen ist Verästelung und Lamellenbildung häufig zu beobachten. Ihre Bewegung ist im hängenden Tropfen ziemlich rasch, dementsprechend auch die Ortsveränderung des ganzen Tieres [ $15 \mu$  (Körperlänge) pro Minute]. Die Nahrungsaufnahme zeigt nichts besonderes, es werden gelegent-

lich auch Nahrungskörper (Amöbencysten) aufgenommen — die Hauptnahrung bilden natürlich Bakterien — deren Durchmesser den der Schalenöffnung weit übertrifft. Als Anzeichen des Weges, den die Nahrung nimmt, sieht man bei Individuen, die auf der Höhe ihrer vitalen Funktionen stehen, öfters eine zentrale Stelle in der Verdauungszone, die als Fortsetzung der Pseudopodien imponiert (Fig. 86). Im fixierten Präparat stellen sich die Pseudopodien günstigsten Falles als ein gelappter Klumpen dar, meist sind sie gänzlich kontrahiert.

Ich fand die im vorhergehenden beschriebene Thecamöbe in der Literatur nirgends beschrieben oder erwähnt und nenne sie daher unter Aufstellung eines neuen Genus —: *Rhogostoma schüssleri* ( $\rho\omega\xi$  = die Spalte, der Speziesname zum Andenken an HERMANN SCHÜSSLER).

**Teilung.** Es soll zuerst die Kernteilung an fixierten Tieren beschrieben werden, weil die Lebendbeobachtung davon zu wenig erkennner läßt; letztere soll zugleich mit der Schilderung der Zellteilung die Darstellung beschließen.

Der Beginn der Prophase ist gegeben durch allmähliches Auftreten von Strukturen im Außenkern, es entsteht zunächst ein feines Netzwerk, wird immer größer, bis sich schließlich deutlich gewundene Fäden differenzieren, die bei Ende der Prophase in Chromosomen zerfallen und das typische Bild eines Metazoenspirems darbieten (Fig. 94—97). Neben den chromatischen Elementen bleibt der nach wie vor homogene Außenkern enthalten, er bildet die Grundsubstanz, in der sie eingebettet erscheinen (Fig. 98). Die Kernmembran wird allmählich undeutlich, doch bleibt der Kern noch scharf abgegrenzt. Im weiteren Fortschreiten der Teilung rücken die Chromosomen, sich sehr allmählich verkürzend, gegen das Zentrum des Kernes (Fig. 98). Jetzt verliert das Caryosom seine kugelige Gestalt und nimmt unregelmäßige Umrisse an (Fig. 98). Die Chromosomen ordnen sich zu einem Ring an, der parallel zur Teilungsebene steht und lassen dabei zwei homogene Außenkernkappen stehen (Fig. 99). Sodann verschwindet die Kernmembran, die Außenkernkappen beginnen sich zu strecken, der Kern bekommt elliptische Form, das Caryosom verliert seine Färbbarkeit und beginnt sich in unregelmäßiger Weise zu fragmentieren (Fig. 100—102).

Dieser Prozeß sei jetzt zusammenhängend beschrieben. Zu bemerken ist, daß er in seinem zeitlichen Verlauf an die Abfolge der übrigen Kernteilungsphasen nicht streng gekunden ist. Er kann sich manchmal bis in die beginnende Telophase hinein verspäten (Fig. 110). Meist beginnt er mit einer Streckung des Caryosoms in



der Spindelachse, der der Zerfall in 3–10 Stücke folgt. Diese verteilen sich in annähernd gleichen Zahlen an die beiden Spindelpole und werden dort entweder unsichtbar (man wird bei der Schilderung der Telophase sehen, warum ich nicht sage: sie verschwinden), in ungefähr 50 Proz. aller Fälle bleiben jedoch zwei von ihnen erhalten, die dann an den in diesem Falle spitzen Spindelpolen Centrosomen vortäuschen (Fig. 105, 106). Manche Bilder (Fig. 101, 102) scheinen dafür zu sprechen, daß eine allmähliche Elimination der Caryosomfragmente zugunsten der Pseudocentrosomen eintritt. Diese Caryosomfragmente sind nicht mit Centriolen zu identifizieren — die lokomotorische Komponente ist ja im Rest des Außenkerns zu erblicken — sondern das Phänomen ist als Ausdruck irgendwelcher Kräfte, die die Brocken in die Spindelpole bringen (wodurch deren Zuspitzung eo ipso bedingt wird) zu deuten. Besonders in Pikrinsäurepräparaten ist die Ähnlichkeit mit Centrosomen frappant, da bei dieser Fixierung das Caryosom und seine Fragmente die Färbbarkeit, zumal mit Eisenhämatoxylin, vollständig bewahren (Fig. 111).

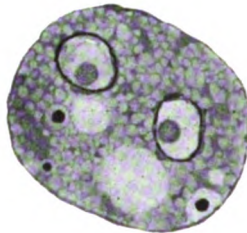
In der nun folgenden Metaphase haben sich die Chromosomen noch mehr verkürzt, sind in einer Ebene angeordnet und ihre Zahl

läßt sich häufig auf 14 bestimmen (Textfig. E). Die Spindel hat bald stumpfe (Fig. 107), bald spitze (Fig. 105) Pole. Manchmal scheint sie sogar mehrpolig zu sein (Fig. 104), was aber sicher nicht als Ausdruck einer Polyenergie des Kerns (s. DOFLEIN bei *Amoeba proteus*), sondern als Folgeerscheinung des Schwindens der Kernmembran zu deuten ist. Es ist ja sehr wohl denkbar, daß durch irgendwelche Widerstände im Cytoplasma diese Zerklüftung der Spindelpole bedingt ist. Die



Textfig. E.

Textfig. E. *Rhogostoma schüssleri*. Chromosomenring aus Präparat herausgezeichnet. Pikrineisessig DELAFIELD. Vergr. 3200×.

Textfig. E<sub>1</sub>

Textfig. E<sub>1</sub>. *Rhogostoma schüssleri*. Abnormes Individuum aus alter Kultur. Zweikernig infolge unterbliebener Zellteilung.

Pikrineisessig. E.H. Vergr. 2300×.  
(Auf  $\frac{1}{5}$  bei der Reproduktion verkleinert.)

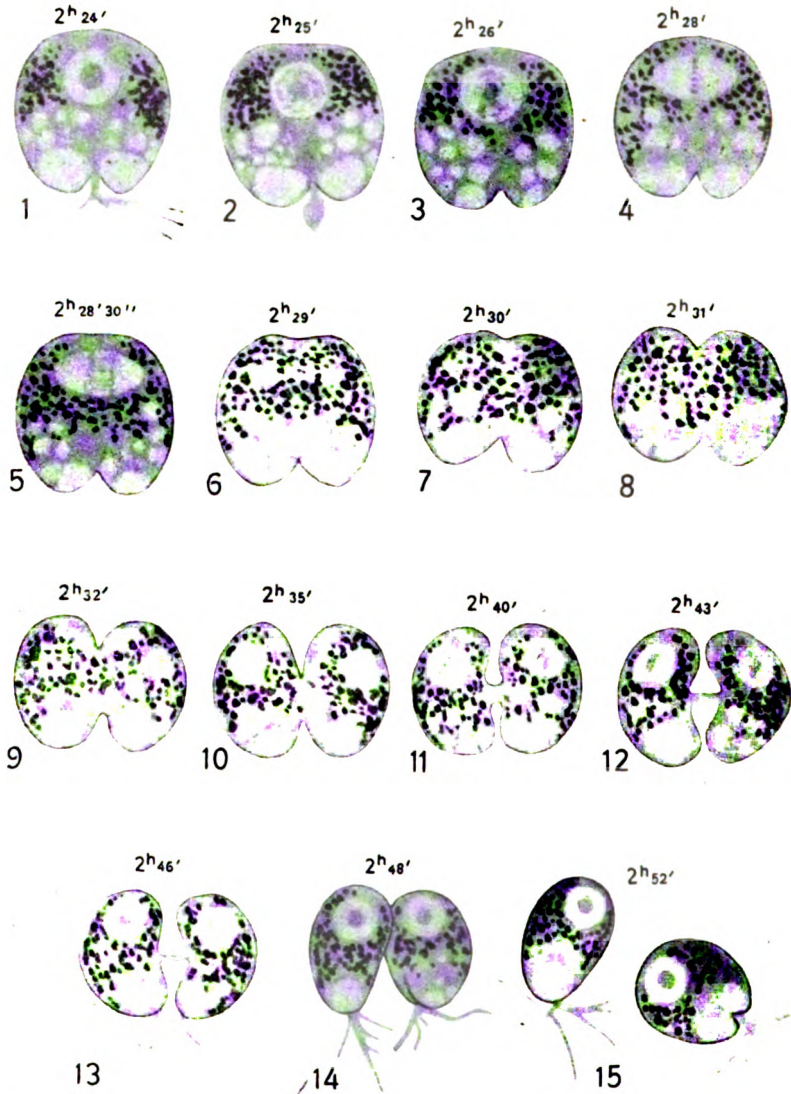
Spindelfasern sind nur in günstigen Fällen deutlich wahrzunehmen, man findet nicht allzu selten völlig homogene Spindeln (Fig. 106).

In der Anaphase werden die Chromosomen geteilt — infolge der vorausgegangenen Verkürzung kann man nicht konstatieren, ob Längs- oder Querteilung stattfindet — und wandern rasch ausein-

ander (Fig. 106—108). Je zwei Tochterchromosomen verbindet ein dünner Faden, der sich mit Alaunhämatoxylin stark färbt (Fig. 109, 110). Das Mittelstück der Spindel erscheint jetzt dadurch deutlich gefasert, während die Polteile ihre Faserstruktur völlig eingebüßt haben (Fig. 109, 112). Manchmal kann man eine stärkere Fibrille wahrnehmen, die eine Centrodosome vortäuscht (Fig. 115), es kann sein, daß sie die Bahn der Caryosomfragmente bezeichnet. Die Tochterplatten kondensieren sich immer mehr, die Chromosomen verklumpen (Fig. 112, 113). Dieses Stadium, welches ziemlich lang auszuhalten scheint, markiert den Beginn der Telophase — auch die Zellteilung setzt jetzt ein. Spindelpole und Caryosomfragmente bilden mit der Tochterplatte einen stark färbbaren Komplex, in dem nähere Details nicht zu unterscheiden sind und aus dem der Tochterkern entsteht. Ein heller Hof umgibt die jungen Tochterkerne. Der Klumpen lockert sich allmählich auf, man kann gelegentlich einen zentralen Kern unterscheiden und — der Prozeß scheint sehr rasch vor sich zu gehen — die chromatische Substanz, jetzt nicht mehr als deutliche Chromosomen erkennbar, fließt an die Peripherie ab, das Caryosom im Zentrum liegen lassend (Fig. 113—116). Der neue Außenkern wird immer homogener, das Kernvolumen vergrößert sich, die Kernteilung ist beendet (Fig. 117). Das Mittelstück der Spindel bleibt lange, bis in die späte Telophase hinein als breites Band (Fig. 114, 116) bestehen und löst sich schließlich allmählich auf, Aus dem Umstand, daß die Caryosomfragmente so lange Zeit erhalten bleiben und die Polteile der Spindel mit den Tochterplatten zu verschmelzen scheinen, könnte man auf eine Kontinuität des Caryosoms schließen; jedoch ist im Hinblick auf die Kernteilung verwandter Formen die Annahme wahrscheinlich, daß es in der späten Metaphase resorbiert und in der Telophase neugebildet wird.

Es erübrigt, vorstehende Schilderung durch die Resultate der Lebendbeobachtung zu ergänzen (Textfig. F 1—15). Das erste Anzeichen der Teilung ist das Einziehen der Pseudopodien, zuerst zu einem Stumpf, später völlig (2). Dann sieht man das Spirem sich undeutlich im Außenkern entwickeln (3), das Caryosom verliert seine scharfen Umrisse und verschwindet schließlich. Die Chromosomen werden deutlicher, ordnen sich im Äquator an, die Teilungsebene steht senkrecht auf der Breitseite (4). Spindelfasern sind im Leben nicht zu beobachten. Die Anaphase (5) vollzieht sich sehr rasch und es beginnt die Zellteilung. Von diesem Moment an lassen sich die Kernveränderungen nicht mehr beobachten, da die Grenzen der Phäosomenzone verwischt und die Tochterplatten resp. Tochter-

kerne von diesen total verdeckt werden. Man kann nur die Zellteilung beobachten. Die untere Einschnürung ist bereits durch die



Textfig. F. *Rhogostoma schüssleri*. Teilung im Leben (hängender Tropfen).  
Vergr. 1150  $\times$ .

Furchen, die von der Schalenöffnung ausgehen, präformiert. Die obere Furche legt sich in derselben Ebene an. Beide schneiden

immer tiefer ein, bis nur ein zentraler Verbindungsstrang zwischen den Tochterzellen übrigbleibt, der dadurch, daß sich diese um ihn immer mehr abheben (11—13), gedehnt wird. Die Tochterkerne sind auf diesem Stadium bereits wieder sichtbar, die Zone der Excretkörner verkleinert. Man sieht von der Rekonstruktion der Kerne bloß das Dentlicherwerden der Caryosome. In der Zeit, da der Verbindungsstrang noch besteht, bilden sich neue Schalenfurchen normal zur Teilungsebene, sowie Pseudopodien aus (14). Man muß annehmen, daß die Schalenöffnung zu gleichen Teilen auf die Tochterzellen übergeht. Wenn der Verbindungsstrang durchreißt, runden sich die vorher nierenförmigen Zellen ab und kriechen auseinander (15). Die Dauer der Teilung beträgt ca. 20 Minuten. Werden sie daran durch Platzmangel oder zu festen Agar an der völligen Trennung gehindert, so bleiben sie mit den Pseudopodien beisammen und bilden schließlich Rosetten in derselben Weise wie *Chlamyodophrys* (Textfig. B). Erwähnt sei noch, daß in mit Alaunhämatoxylin gefärbten Präparaten die Tiere, die sich in Teilung befinden (vom Ende der Prophase an) eine geringere Affinität der Chromidialkappe zur Farbe zeigen als die übrigen, sowie erhöhte Neigung zur Schrumpfung.

Es tritt uns hier zum erstenmal in der Reihe der hier beschriebenen Formen der Fall einer Längsteilung entgegen, die auch schon bei anderen Thecamöben beobachtet wurde (zuerst von GRUBER). Wenn man das Bedürfnis hat, so kann man diese Form der Teilung als die primitivere gegenüber der Knospungsteilung der übrigen Thecamöben auffassen. Zweifellos ist auf jeden Fall, daß sie mit der weichen Konsistenz der Schale in ursächlichem Zusammenhang steht. Wenn man außer Wasseraufnahme und Oberflächenkräften auch noch stemmende Energien der Kernteilungsspindel als bewirkende Faktoren der Zellteilung gelten läßt, so geht daraus ohne weiteres hervor, daß mit dem Festerwerden der Schale die Kernspindel an derselben einen Widerstand findet, diesem ausweicht, sich in die Längsachse der Schale einstellt und die Plasmamasse bei der Schalenöffnung zum Herausquellen veranlaßt; und dann hat man die Teilung von *Chlamyodophrys*. Noch mehr: diese Drehung der Kernspindel könnte direkt als eine Art Beweis dafür gelten, daß die Spindel eine Druckwirkung ausübt, wofür KÜHN in seiner letzten Arbeit für *Vahlkampfa* den einwandfreien Nachweis erbringt. Es läßt sich eine morphologische Reihe konstruieren, die von *Rhogostoma* über *Chlamyodophrys* zu *Euglypha* führt, wo sich die Spindel bereits von vornherein in die Längsachse einstellt. Ein Beweis für obige Anschauung ließe sich natürlich nur durch das Experiment beibringen. DOFLEIN gibt

zwar für *Pyzidicula operculata* an, daß sich die von ihm gezüchtete schalenlose Kulturform längsteilt; doch vermißt man in seiner Arbeit den Nachweis, daß es sich hier wirklich um Längsteilung handelt, nachdem er ja selbst sagt, daß die Schale bei seinen Kulturformen geschwunden ist; zonare Gliederung des Plasmakörpers besitzt *Pyzidicula* ebenfalls nicht, so daß man keine Anhaltspunkte hat, um die Längsachse bei den an der Wasseroberfläche flach ausgebreiteten Tieren zu bestimmen und ihre Lage zur Teilungsebene zu beurteilen. Das Experiment, welches ich beabsichtige, müßte an einer *Chlamydo-phrys*-Art angestellt und versucht werden, die Schale durch irgendein Agens soweit zu erweichen, bis eine Längsteilung mechanisch möglich erscheint.

**Dauerform.** Wie schon anfangs erwähnt, geht *Rhogostoma* nach einigen Tagen in die Dauerform über. Der Prozeß beginnt im Zentrum jeder Impfstelle und greift von da zur Peripherie über; die Ursachen scheinen dieselben zu sein, die bei *Chlamydo-phrys* die Encystierung veranlassen, also Anhäufung von Stoffwechselprodukten; Nahrungs- und Platzmangel kann wohl nicht in Betracht kommen, da diese Vorgänge auch in flüssigen Kulturen (im hohlgeschl. Objektträger) auftreten. Daß sie durch starke Herabsetzung der Temperatur lange hintangehalten werden können, ist auch ohne weiteres verständlich. Der Übergang in die Dauerform (Fig. 84, 85, 87, 88, resp. 90—93) vollzieht sich ganz allmählich und beginnt mit der Abnahme der Phäosomen. Sodann vergrößert sich das Kernvolumen etwas, das Caryosom wird kleiner und das Außenchromatin ordnet sich in größeren Blocken und Strängen an (Fig. 90) — also genau dieselben Kernveränderungen wie bei der Encystierung von *Chlamydo-phrys*. Auf diesem Stadium besitzen die Tiere noch volle Beweglichkeit und nehmen Nahrung zu sich (Fig. 84, 85). (Es scheint, daß sie gegen Bakterieninfektion empfindlicher sind als sonst, da man auf diesem Stadium weit mehr Individuen findet, die von Bakterien befallen sind, welche sich auf Kosten des Plasmas vermehren, bis nur mehr die Schale übrigbleibt.) Nach ca. einem Tage wird die Nahrungsaufnahme eingestellt, die Körperform wird ganz rundlich und die Pseudopodien werden eingezogen, so daß die Rosettenverbände gelöst werden und die Tiere sich gleichmäßig auf der Agarplatte verteilen (Textfig. C). Die Schalenöffnung schließt sich, das Plasma wird allmählich vollständig homogen. Im fixierten Präparat ist es gleichmäßig alveolär strukturiert und hat die Affinität der Chromidialkappe zu Kernfarbstoffen (Fig. 92, 93); somit ist auch die zonare Gliederung verloren gegangen. Auch der Kern hat



seine streng symmetrische Lage aufgegeben, doch liegt er meist in der oberen Hälfte des Plasmakörpers. Die Phäosomen sind auf ein Minimum reduziert und auf die nächste Umgebung des Kernes beschränkt (Fig. 87, 88). Die kontraktile Vakuole hat ihre Tätigkeit eingestellt. In diesem Zustand kann das Tier scheinbar beliebig lange verharren (die ältesten Dauerformen, die ich besitze, sind 5 Monate alt), um sich bei Überimpfen auf neuen Nährböden auf dem umgekehrten Wege im Laufe von 6—10 Stunden wieder in die typische Form umzuwandeln.

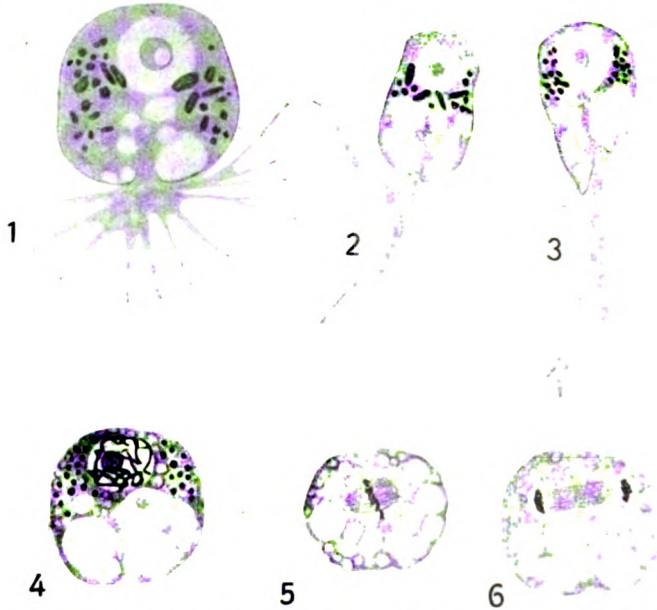
Auch das Verhalten bei Austrocknung wurde geprüft, ohne daß ich darauf gerechnet hätte, daß diese zartwandigen Entwicklungsstadien irgendwelche Resistenz dagegen besäßen. Wider Erwarten ist dies jedoch der Fall. Es wurden kleine Stückchen einer völlig ausgetrockneten Agarplatte, die mit Dauerformen dicht besetzt war, aus der Schale herausgekratzt, dann bei Zimmertemperatur in einer Schale noch 3—4 Tage liegen gelassen — der Agar war zu völlig trockenen, hornigen Spänen geworden — und sodann auf eine neue Platte übertragen. Binnen 12 Stunden war diese mit normalen Individuen besetzt. Die genauere Untersuchung zeigte, daß die Dauerformen durch die Austrocknung keine sichtbare Veränderung erfahren (etwa Cystenbildung innerhalb der Schale) und sich bei Wiederbefeuchtung restlos in die normale vegetative Form umwandeln (es erfolgt also auch kein Ausschlüpfen aus der Schale). Wir haben es hier mit einer Dauerform zu tun, die meines Wissens bis jetzt bei Protisten nicht bekannt ist und mit den entsprechenden Stadien bei Tardigraden und Rotatorien in Parallele zu setzen ist. (Aus BREUER'S Beschreibung der Cysten seiner *Chlamydophrys grata* kann man entnehmen, daß es sich wahrscheinlich um dieselbe Art von Dauerformen handelt wie hier. Ein Vergleich seiner Fig. 2 u. 3 mit meiner Fig. 5 zeigt den Unterschied von einer richtigen *Chlamydophrys*-Cyste.)

Ich konnte feststellen, daß bis zu 3 Monaten andauernde Austrocknung ertragen wurde.

Anhangsweise sei noch erwähnt, daß kurz vor Abschluß der Arbeit eine zweite *Rhogostoma*-Art aufgefunden wurde, die sich in allen wesentlichen Punkten wie *Rhogostoma schüssleri* verhält und sich von dieser nur durch geringere Größe (10—12  $\mu$ ) und weit geringere Formbeständigkeit der Schale (Textfig. G; 2, 3) unterscheidet. Textfig. G macht eine weitere Beschreibung überflüssig. Ich nenne die Form *Rhogostoma minus*.

Schließlich noch eine kurze Diagnose von *Rhogostoma*: Thecamöben

von zweistrahlig-symmetrischem Bau mit dünner Schale, spaltförmiger Mundöffnung und Filopodien. Protoplast zonar gegliedert, zwei symmetrisch angeordnete pulsierende Vakuolen, Phäosomenschicht diffus zwischen Chromidialkappe und nutritorischer Region ausgebildet. Bläschenförmiger Caryosomkern. Fortpflanzung durch Längsteilung in der einen Symmetrieebene; Mitose charakterisiert durch



Textfig. G. *Rhogostoma minus*. 1—3 nach dem Leben, 4—6 Teilungsstadien.  
P.E. DELAFIELD. Vergr. 1900 $\times$ .

deutliche Spiremstadien in der Prophase und Verlust der Kernmembran. Die Tochterkerne entstehen bloß aus den Tochterplatten. Dauerzustände sind keine Cysten, sondern etwas umgewandelte, vegetative Individuen, gegen das Außenmedium durch Verschluss des Spaltes abgeschlossen; gegen Austrocknung resistent. Oligosaprobe Süßwasserbewohner, Bakterienfresser.

Zwei Spezies:

1. *Rhogostoma schüssleri*, Größe 15  $\mu$ .
2. " *minus*, " 10—12  $\mu$ , Schale weit metaboler als bei 1.

#### 8. *Pamphagus hyalinus* HERTWIG und LESSER.

Diesen Rhizopoden fand ich in einem Glas, in welchem seit einigen Wochen Wasser aus dem Tiergarten stand; es enthielt eine

oligosaprobe Fauna: eine große Amöbe, *Actinophrys sol*, Vorticellen, *Pandorina*, *Gonium* usw. Über Kultivierung siehe Abschnitt 2; auf Agarzüchtung, welche mißlang, legte ich keinen großen Wert, weil ich hoffte, bei der völlig natürlichen Zucht im Wasser den vollständigen Entwicklungszyklus leichter kennen lernen zu können. Diese Erwartungen haben sich nicht erfüllt; bis jetzt — nach 7 monatlicher Kultur — kenne ich bloß die agame Fortpflanzung und eigenartige Depressionszustände. Die Lebenduntersuchung geschah meist im hängenden Tropfen, und zwar wurden die Tiere mit der Pipette auf ein Deckglas übertragen, wo sie sich rasch anhefteten, sodann wurde das Deckglas schnell umgekippt und in der üblichen Weise montiert. Wenn man dem Tropfen einen *Spirogyra*-Faden als Sauerstoffquelle beigibt, so verhält sich diese Kultur en miniature bis zu 48 Stunden völlig normal; dann tritt allerdings unfehlbar Depression ein. Die starke Neigung zum Anheften kam auch bei der Abfertigung von Präparaten zustatten, die in derselben Weise erfolgte; die Pseudopodien ließen sich besonders schön und leicht in völlig ausgestrecktem Zustande fixieren, wie Textfig. K zeigt.

Worauf ich bei nachfolgender Darstellung besonderen Wert legen möchte, ist, daß sämtliche mitgeteilte Beobachtungen an dem lebenden Tier gemacht wurden und durch das Studium von Präparaten nur um ein geringes ergänzt werden mußten.

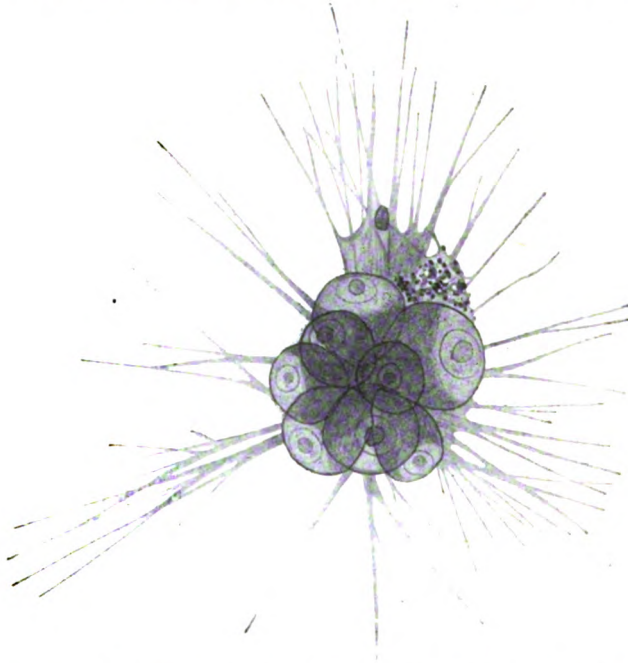
Die systematische Stellung vorliegender Form wurde nach den Zusammenstellungen von PENARD, HERTWIG-LESSER und CLAPAREDE-LACHMANN ermittelt. Sie stimmt mit *Pamphagus hyalinus* (früher *Lecythium hyalinum*) nach HERTWIG's und LESSER's Diagnose weitgehend (wenn auch nicht völlig) überein und sei daher unter diesem Namen beschrieben. Die Größe (gemeint ist der größte Durchmesser vom Pol der Schale bis zu deren Öffnung) schwankt zwischen 20 und 40  $\mu$ ; das Pseudopodiennetz kann sich bis zu 80  $\mu$  im Umkreis der Tiere erstrecken. Die Schale hat annähernd Kugelgestalt, ist sehr dünn, farblos und geschmeidig, mit kreisförmiger Öffnung; wird sie isoliert (durch Zerquetschen, oder dadurch, daß der Protoplast daraus hervorkriecht — im fixierten Präparat haftet sie infolge ihrer Feinheit dem Protoplasma dicht an —) so erscheint sie als ein gefaltetes Häutchen. Der Protoplastkörper zeigt scharf zonare Gliederung in Chromidialkappe und nutritorische Region. Erstere zeigt im Leben sowohl wie auch im fixierten Präparat fein alveoläre bis homogene Struktur; die Affinität zu Alaunhämatoxin ist etwas schwächer als bei *Chlamydothryx*. Im Zentrum ist der Kern gelegen, von etwas abgeplatteter Kugelgestalt. Eine Kernmembran ist im Leben deutlich erkennbar.



In der Mitte liegt das Caryosom, homogen oder vakuolisiert, ebenfalls kugelig, umgeben vom alveolären Außenchromatin.

Die Grenze zwischen Chromidialkappe und der nachfolgenden Zone wird im Leben durch eine Schicht von Phäosomen verwischt. Im fixierten Präparat sind dieselben meist unsichtbar, nur mit DELA-FIELD's Hämatoxylin färben sie sich nach Pikrinsäurefixierung rot (Volutin?). Meist von sphärischer Gestalt, erscheinen sie doch manchmal als kristallähnliche Gebilde, eventuell in kleine Vakuolen eingeschlossen (Fig. 118). Excretkristalle wie bei *Chlamydothryx* kommen nicht vor.

Die nutritorische Zone zeigt nichts Bemerkenswertes, ist vakuolisiert und erfüllt mit Nahrungskörpern in allen Stadien der Verdauung.



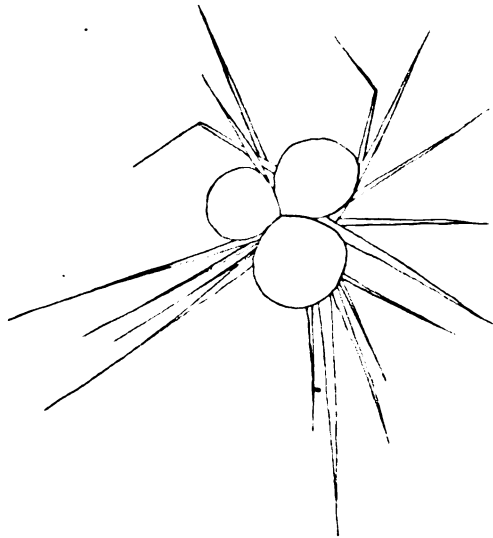
Textfig. H. *Pamphagus hyalinus*. Kolonie im Leben. Vergr. 550 $\times$ .  
(Auf  $\frac{1}{8}$  verkleinert.)

Bis zu vier kontraktile Vakuolen waren zu konstatieren, die ohne bestimmte Lage unabhängig voneinander sich alle 40—60 Sekunden entleerten. Die Pseudopodien entspringen von einer vakuolisierten, mit Exkrementen (in Textfig. H als granulierte Masse oben erkennbar) beladenen Protoplasmamasse, die aus der Schalenöffnung vorquillt. Meistens ist die ganze Schale außerdem von einer dünnen Schicht

nackten Protoplasmas umgeben, von der überall Pseudopodien entspringen (Textfig. K). Letztere verlaufen meist radiär, bilden Anastomosen und Lamellen und zeigen im übrigen das typische Verhalten der reticulosen Pseudopodien. (Auch die bei Foraminiferen beobachteten Achsenfäden lassen sich — bei gewöhnlicher Beleuchtung — an den dickeren Pseudopodien feststellen.) Dies gilt für den Fall, daß die Tiere auf der Höhe ihrer Lebenstätigkeit am Boden des Kulturgefäßes träge umherkriechen, wobei sie flächig ausgebreitete Kolonien bilden (Fig. 119), deren Pseudopodien untereinander verschmolzen sind. Wenn die Tiere jedoch teils einzeln, teils zu kleinen Kolonien vereinigt (wobei die Tiere ihre Mundöffnungen einander zukehren und eine kugelige Gruppe bilden), im Wasser frei schweben, woran man, wie auch bei anderen Rhizopoden, eine — sit venia verbo — gelinde Unzufriedenheit mit den äußeren Lebensbedingungen sofort erkennen kann (Ansammlung von Stoffwechselprodukten), so bilden die Pseudopodien ziemlich starre, meist unverzweigte, scharf zugespitzte Strahlen, die niemals anastomosieren (Textfigur J). Extreme Schädigungen (Halten in Nährlösung nach KNOP oder BENECKE, Wärme über 25°) stören die Ausbildung der Pseudopodien soweit, daß meist nur eines als dicke Lamelle gebildet wird, Keulenform annimmt, und schließlich eingezogen wird.

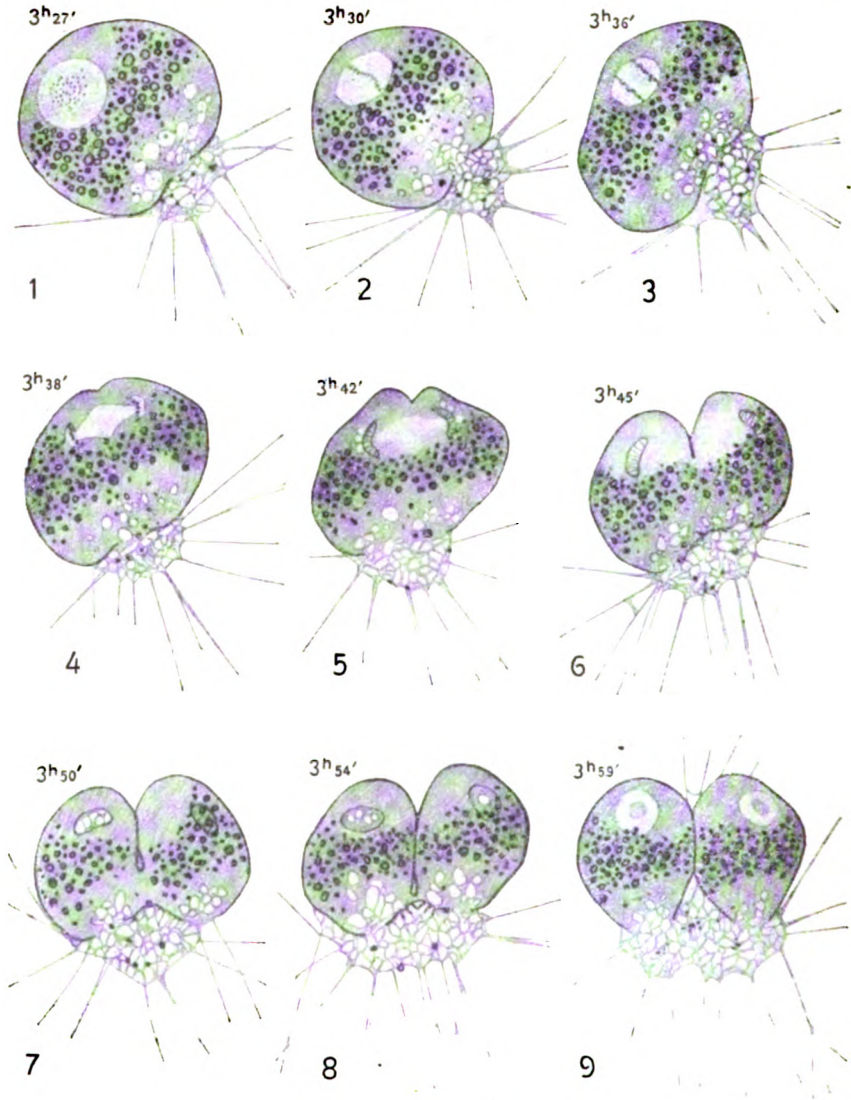
Aus obiger Darstellung sind sofort die Charaktere erkennbar, welche unsere Form mit dem Genus *Chlamydothryx* gemeinsam hat: Kernbau und Phäosomen — wodurch ihre Einfügung in den Rahmen der vorstehenden Untersuchungen gerechtfertigt erscheint.

Teilung (Fig. 120 a—y). Für das Studium der Teilung ist *Pamphagus* ein überaus günstiges Objekt, welches auch die Kernteilung im Leben mit aller nur wünschenswerten Genauigkeit zu



Textfig. I. *Pamphagus hyalinus*. Kleine Kolonie, schwebend. Vergr. 550× (nur die Umrisse der Zellen und Pseudopodien gezeichnet). (Auf  $\frac{1}{6}$  verkleinert.)

verfolgen gestattet, wobei es sich herausstellte, daß man über manche Prozesse der Caryokinese durch die Lebensbeobachtung weit mehr



Textfig. J. *Pamphagus hyalinus*.

Zellteilung im Leben beobachtet (hängender Tropfen). Vergr. 575 $\times$ .  
(Die Deutlichkeit der Kernteilungsfigur ist etwas übertrieben.)

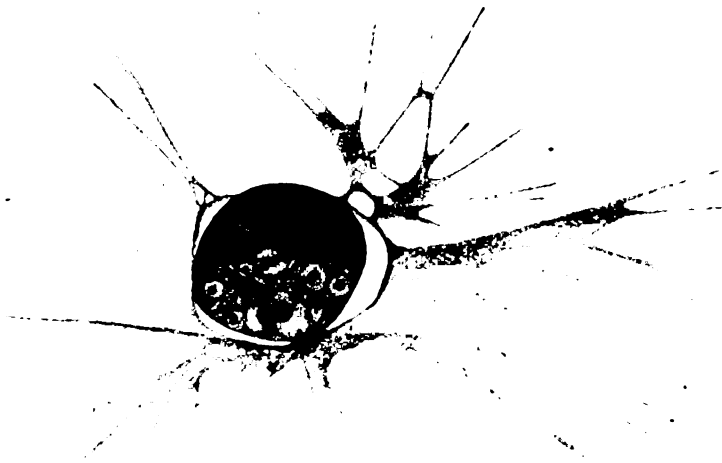
Klarheit gewann als am fixierten Präparat. Dies gilt speziell für Ab- und Aufbau des Caryosoms. Von letzterem Vorgang hätte ich

mir eine ganz falsche Vorstellung gemacht, wenn ich mich nur an fixierte Präparate hätte halten können. (Die Fig. 120 a—g sind in der Weise hergestellt, daß ich die Umriss des Kernes und der Äquatorialplatte an einem sich teilenden Tier mit dem Zeichenapparat entwarf; die feineren Details wurden an zahlreichen Exemplaren studiert, einzelne Phasen genau gezeichnet und in die Umriss hineinkombiniert).

Vorausgeschickt sei, daß während des ganzen Teilungsprozesses die Pseudopodien in der „Expansionsphase“ verharren (wenngleich die Beweglichkeit stark gehemmt ist); die „Kontraktionsphase“ des Protoplasten als ein prinzipielles Begleitphänomen der Zellteilung zu bezeichnen (KÜHN, GLÄSER) ist demnach (wie schon oft, zuletzt von JOLLOS hervorgehoben wurde) unstatthaft. Dieser Umstand bringt es auch mit sich, daß Tiere, die sich zur Teilung anschicken, an gar keinem Merkmal kenntlich sind und man auf geduldiges Beobachten möglichst großer Exemplare — von denen man also annehmen kann, daß sie sich bald teilen werden — angewiesen ist. Hierbei ist es rätlich, die Beleuchtung des Präparates auf das unumgänglich nötige Minimum einzuschränken (Abblenden, Bedecken des Spiegels), da sich sonst bei andauernd starker Beleuchtung Hemmungen des Teilungsprozesses bemerkbar machen.

Die Kernteilung beginnt damit, daß in den Knotenpunkten des Netzes, als welches sich die Alveolarstruktur des Außenkerns präsentiert, Körnchen auftreten (Fig. 120 a). Das Caryosom hat schon lange vorher völlig homogene Struktur angenommen. Die Körnchen wurden größer und deutlicher, die „Netzfäden“ (also die Alveolenwände) schwinden. Das Caryosom verliert seine scharfe Begrenzung (Fig. 120 b) und Kugelgestalt — es hat ganz den Anschein, als ob es sich verflüssigte — und löst sich schließlich rasch auf, indem sich an seiner Peripherie Tropfen auf Tropfen ablösen, die im Außenkern verschwinden (Fig. 120 c). Die Körnchen im Außenkern — die Chromosomen — nähern sich dem Zentrum in dem Maße, als das Caryosom schwindet, wobei jedoch zwei Seiten begünstigt werden, so daß in der Seitenansicht ein breiter Streifen von Chromosomen den Kern erfüllt (Fig. 120 d, e). Die folgenden Vorgänge bis zur vollendeten Metaphase machen den Eindruck, als ob die Chromosomen durch Druckwirkung von zwei Seiten her (den späteren Spindelpolen) in eine Ebene gezwängt würden, bis sie nicht mehr übereinander, sondern alle nebeneinander liegen. Der Effekt ist dann natürlich der, daß die so entstehende Äquatorialplatte in dem Maße an Flächenausdehnung zunimmt, als sie an Dicke einbüßt und

auf diese Weise den Kern zu einem sich immer mehr abflachenden Sphäroid deformiert (Fig. 120 e—i). (Die Kernmembran ist bis jetzt erhalten geblieben.) Sobald das Maximum der Flächenausdehnung der Äquatorialplatte erreicht ist, setzt die Anaphase ein, welche, wie stets, sehr rasch verläuft. Man sieht zwischen den sich teilenden Chromosomen — wiederum kann man infolge ihrer Kürze nicht entscheiden, ob Quer- oder Längsteilung stattfindet, — winzige Vakuolen auftreten (Fig. 120 j), die sich zusehends vergrößern und dadurch die Tochterplatte auseinanderdrängen (Fig. 120 k). Die



Textfig. K. *Pamphagus hyalinus*. Typisches kleines Individuum nach gefärbtem Präparat. S. A. H. Vergr. 1150 $\times$ . (Bei der Reproduktion auf  $\frac{1}{6}$  verkleinert.)

Zwischenwände der Vakuolen schwinden nach und nach (Fig. 120 l). Daß eine Druckwirkung von Flüssigkeit bei der Anaphase im Spiel sein muß, zeigt die Ausbuchtung der Spindel im Äquator gegen das Cytoplasma zu (Fig. 120 l, m, n).

Von einer Spindelfaserung ist nicht das geringste zu bemerken. Die Tochterplatten nehmen an Breite ab, an Dicke zu, die Chromosomen verschmelzen zu einheitlichen Platten, welche eine leichte

konkave Krümmung gegeneinander ausbilden (Fig. 120 n—o); offenbar der Ausdruck der Kontraktion einer Haptogenmembran — der neuen Kernmembran — die die Tochterplatten ausgebildet haben; die Konkavität ist bedingt durch die Anheftungsstelle des Spindelmittelstückes). Die Polteile der Spindel verschwinden zunächst als sich ablösende Vakuolen im Plasma — damit ist gleichzeitig völlige Auflösung der Kernmembran verbunden (Fig. 120 n, o). Das Spindelmittelstück löst sich erst später auf, indem es ganz allmählich undeutlich wird (Fig. 120 p, q). In den Tochterzellen, die jetzt eine deutliche Abgrenzung gegen das Plasma besitzen — die neue Kernmembran (Fig. 120 p, q) — setzt nunmehr die Rekonstruktion ein. Es treten kleine, längsgezogene Vakuolen auf, die parallel der ehemaligen Spindelachse gerichtet, untereinander verschmelzend zusehends größer werden und den Tochterkern aufblähen (Fig. 120 p, q, r). Die Konkavität des letzteren schwindet, die Zahl der Vakuolen nimmt ab, ohne daß jedoch die zurückbleibenden im selben Maß vergrößert würden (Fig. 120 s, t).

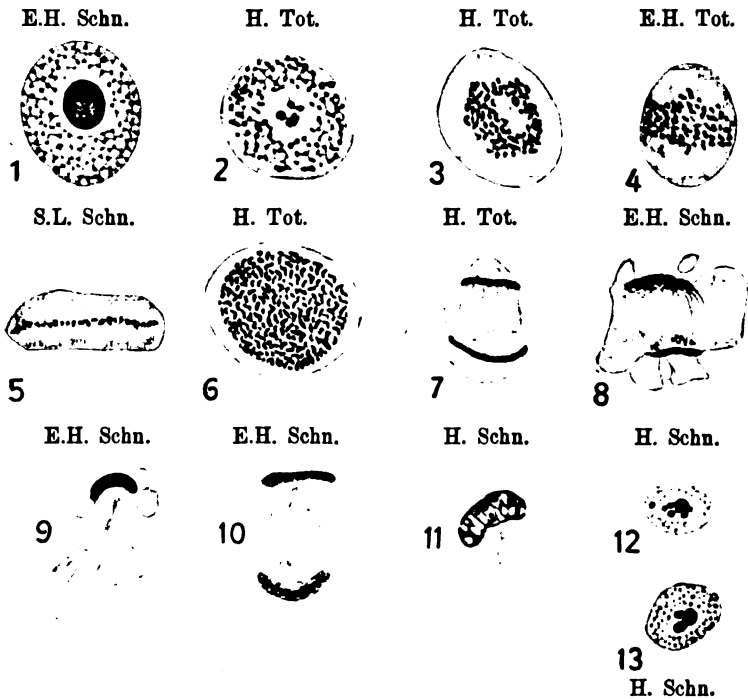
Letztere haben bereits rundliche Gestalt und nehmen die Mitte des Kernes ein, welcher sich zusehends der Kugelgestalt nähert; die Vakuolen fließen weiter zusammen (Fig. 120 t, u, v), die peripheren obliterieren, die zentralen vereinigen sich, bis sich schließlich das Bild, welches uns Fig. 120 w zeigt, präsentiert. Die Vakuole erscheint in diesem Stadium heller als die übrige Kernsubstanz. Ganz allmählich jedoch kehrt sich das Verhältnis um, die zentrale Vakuole wird an der Peripherie dunkler, es treten in ihr neue Vakuolen auf, der übrige Kern nimmt Alveolarstruktur an — die Vakuole ist zum Caryosom des Tochterkernes geworden (Fig. 120 x, y). Die Kernteilung ist damit beendet; sie dauert einschließlich der Zellteilung, über die kein Wort zu verlieren ist (Textfig. J) eine halbe Stunde; die einzelnen Zeiten sind über jeder Figur angegeben.

Obige Darstellung bedarf nur weniger Ergänzungen durch Beobachtung an fixierten Präparaten. Das Vorhandensein von deutlichen Spindelfasern kann so konstatiert werden. Die Faserstruktur tritt erst bei vollendeter Metaphase auf, sich offenbar aus dem Rest des Außenkernes herausdifferenzierend (Textfig. M, 4, 5). Die Polteile der Spindel verlieren in der Anaphase die Faserstruktur, welche einer granulären Platz macht (Textfig. M, 7). Das Mittelstück be-



Textfig. L. *Pamphagus hyalinus*. Teilungstadien nach fixiertem Präparat. (S.A. H.) Vergr. 1150×. (Bei der Reproduktion auf  $\frac{1}{2}$  verkleinert.)

hält jene noch lange bei und es zeigt sich, daß die Fasern nicht den ganzen Kernraum erfüllen (Textfig. M, 8), sondern zu beiden Seiten eine granuläre Zone (Kunstprodukt) freilassen. Ferner kann man die Äquatorialplatte in der Polansicht genau studieren, die Chromosomen präsentieren sich als kurze Stäbchen, ein Versuch, ihre genaue Zahl festzustellen, erwies sich als aussichtslos, wie ein Blick auf Textfig. M, 6 lehrt.



Textfig. M. *Pamphagus hyalinus*. Kernteilung nach fixierten Präparaten.

(E.H. = Eisenhämatoxylin; H. = Hämalan; S.L. = Safranin-Lichtgrün; Schn. = Schnitt (4  $\mu$ ); Tot. = Totalpräparat.) Vergr. 1150  $\times$ .

Dagegen kann uns das Präparat über den Wiederaufbau des Caryosoms nicht nur nichts Neues erkennen lassen, sondern gibt uns ein ganz falsches Bild davon. Ein Vergleich zwischen Lebendbeobachtung und Präparat ist in diesem Fall vielleicht ganz instruktiv. Auf einem Stadium, welches dem der Fig. 120 s entspricht, sieht man urplötzlich — ohne daß dazu Übergänge von früheren Stadien herleiten — ein Häufchen von basophilen Brocken in der Kernmitte (Textfig. M, 12). Diese verschmelzen dann zum neuen Caryosom. Anfänglich, da ich die Kernteilung nur aus Präparaten

kannte, war ich der Meinung, daß es die Chromosomen wären, die dergestalt das Caryosom aus sich hervorgehen lassen. Nachdem ich aber die Beobachtungen im Leben angestellt hatte, suchte ich in den Präparaten sorgfältiger nach und fand äußerst selten Stadien, wie Textfig. M, 11 eines zeigt: kleine Kügelchen, in die Vakuolen, die sich zwischen dem chromatischen Reticulum ausdehnen, eingelagert. Was heißt das? Nichts anderes als: erst von einem gewissen Stadium an gewinnen die Vakuolen, die das Caryosom bilden, einen anderen Grad von Gerinnungsfähigkeit und werden damit färbbar. Manchmal tritt dieser Umschlag jedoch schon auf früheren Stadien ein und liefert dann Bilder wie Textfig. M, 11. Es ist anzunehmen, daß dieser Umschlag ziemlich plötzlich vor sich geht nach der allgemeinen Erfahrung, daß Phasen des Formwechsels, je rascher sie im Leben ablaufen, desto seltener im Präparat zu finden sind. Auf dieselbe Art ist Textfig. M, 2 zu deuten. Das Caryosom enthält offenbar Vakuolen, die sich noch färben, während seine Grundsubstanz die Färbbarkeit eingebüßt hat. Eine Betrachtung des fixierten Präparates würde uns also den Abbau des Caryosoms als Fragmentierung darstellen, die Lebendbeobachtung zeigt uns, daß dem nicht so ist.

Die letzte Beobachtung, die man an fixierten Präparaten machen kann, ist, daß, sowie bei allen vorhergehenden Formen, sich teilende Tiere eine geringere Affinität der Chromidialkappe zu Alaunhämatein und stärkere Schrumpfbarekeit zeigen, als die anderen Individuen.

Ohne mich auf ein weitschweifiges Theoretisieren einzulassen, möchte ich doch nicht unterlassen, diejenigen Ergebnisse vorstehender Beobachtungen hervorzuheben, die mir neu und von einiger Bedeutung zu sein scheinen.

1. Die unzweifelhafte Mitwirkung von hydrostatischen Kräften bei dem Mechanismus der Caryokinese, die aus dem Studium der Anaphase erhellt. Mit allem Vorbehalt kann man den ganzen Prozeß der Kernteilung, wie er sich bei *Pamphagus* abspielt, als die Resultierende zweier Druckwirkungen auffassen, die sich zeitlich ablösen: zuerst die Druckwirkung der beiden Spindelhälften, die die Chromosomen in eine Ebene zwingen; dann die Druckwirkung der Vakuolen, die die Tochterplatten voneinander trennen. Ich wiederhole: diese Formulierung will nur ein Bild sein und in keiner Weise etwas Bestimmtes aussagen. Sammeln von möglichst zahlreichen Lebendbeobachtungen, verbunden mit gründlicher, physikalisch-experimenteller Analyse, wird uns vielleicht weiterhin Aufschluß geben können.



2. Das Caryosom ist bei *Pamphagus* wie bei *Chlamydothryx* eine Vakuole, welche — anscheinend — während der meisten Zeit des vegetativen Lebens im Gelzustand verharret und bei der Teilung einem Phasenwechsel unterliegt. Das Caryosom als lokomotorische Komponente aufzufassen, wie das DOFLEIN neuerdings tut, erscheint also auch hier völlig unzulässig, und wir lernen bei den hier beschriebenen Kerntypen eine dritte Art des Caryosoms kennen (die beiden anderen sind 1. Caryosom als Träger der lokomotorischen, 2. als Träger der generativen Komponente), deren Funktion uns vorläufig unbekannt ist. So viel kann man jedenfalls sagen, daß der Caryosomkern ein Formtypus ist, der durch gewisse Ursachen indiziert ist, wobei die Verteilung der beiden Kernkomponenten ganz irrelevant ist; offenbar muß unter gewissen Bedingungen, die bei vielen Protisten realisiert sind, der Kern den Bau eines Caryosomkernes annehmen.

Zusammenfassung. *Pamphagus hyalinus* hat eine Größe von 20—40  $\mu$ , dünne Schale, zonare Gliederung des Protoplasten, Caryosomkern und reticulose Pseudopodien. An der Mitose beteiligt sich nur der Außenkern, das Caryosom verschwindet in der Prophase und baut sich in der Telophase aus Vakuolen, die in den Tochterplatten entstehen, wieder auf. Die Kernmembran bleibt bis in die Anaphase hinein erhalten, löst sich dann auf und die Tochterkerne entstehen nur aus den Tochterplatten. Die Zellteilung ist Längsteilung, die Pseudopodien verharren während der Teilung in der Expansionsphase.

Encystierung wurde nicht beobachtet. Die Beschreibung der Depressionsvorgänge findet sich im Teil 9.

## 9. Die Plasmogamie.

In jeder Agarkultur von *Chlamydothryx* findet man zwei- und mehrkernige Individuen, meist durch besondere Größe ausgezeichnet. Wie entstehen diese Monstra (ich adoptiere SCHAUDINN'S treffenden Ausdruck) und was wird aus ihnen? Auf erstere Frage lautet die Antwort: durch Plasmogamie; die zweite Frage wurde bis jetzt nicht befriedigend beantwortet. In jeder Darstellung des Entwicklungszyklus irgendeines Rhizopoden findet man der Schilderung von plasmogamischen Prozessen breiten Raum gegönnt. Meist auch verbunden mit Spekulationen über deren biologische Bedeutung. Sucht man aus dem reichlich vorliegenden Beobachtungsmaterial sich eine Vorstellung über das Wesen aller Vorgänge, die als Plasmogamie

bezeichnet werden, zu bilden, so findet man zunächst, daß verschiedene Phänomene unter einen Begriff gebracht werden. Und zwar: 1. Eine vorübergehende oder dauernde Verschmelzung der gesamten Protoplasten zweier oder mehrerer Rhizopoden, mehr oder weniger tiefgreifend — die Plasmogamie sensu stricto. 2. Eine ebensolche Verschmelzung, die sich aber nur auf die Pseudopodien oder Ectoplasmamassen erstreckt, die „Pseudopodiogamie“, wie sie unsinnigerweise manchmal genannt wird. Als besten Repräsentant dieses Typus können die „Freßgemeinschaften“ von Heliozoen gelten. (Zu bemerken ist jedoch, daß zu dieser zweiten Art von Plasmogamie Vorgänge gerechnet werden, die damit nichts zu tun haben; es wird oft Kolonienbildung mit Pseudopodienverschmelzung verwechselt). 3. Die Plasmogamie, als die Entstehung eines mehrkernigen Tieres durch gleichzeitige Knospungsteilung zweier oder mehrerer in Pseudopodiengemeinschaft befindlicher Rhizopoden, wie sie für *Euglypha* (REUKAUF, BLOCHMANN, RHUMBLER), *Centropyxis* (SCHAUDINN) und *Arcella* (KHAINSKY) bereits beschrieben wurde und die uns hier des näheren bei *Chlamydothryx* beschäftigen soll; ein Phänomen sui generis, wie aus der folgenden Darstellung ersichtlich. Die Terminologie mit einem neuen Namen dafür zu bereichern, halte ich für überflüssig, weil es sich um Prozesse mit pathologischem Ausgang handelt; ich begnüge mich mit der obigen Trennung der Begriffe und werde im folgenden speziellen Teile unter Plasmogamie nur den für *Chlamydothryx* spezifischen Entstehungsmodus polyenergider Formen verstehen.

Zweitens jedoch kann man bei Durchsicht der Literatur konstatieren, daß von den Phänomenen, die unter einen der drei oben präzisierten Begriffe fallen, eine Anzahl mehr oder weniger willkürlich herausgegriffen und als sexuelle Vorgänge unter dem Namen: Copulation, Conjugation (bei Thecamöben!), Cytogamie, Chromidogamie usw. beschrieben und gedeutet werden. Speziell für die sub 3. angeführte Art der Plasmogamie ist dies oft geschehen. Und hier setzen auch alle Überlegungen an, welche auch die Plasmogamie (nach Ausscheiden aller oben erwähnten „Befruchtungsprozesse“), wenn nicht zu einer Art Befruchtungsvorgang, so doch zu einer phylogenetischen Vorstufe desselben stempeln wollen. Nicht nur in der älteren Literatur, sondern auch in allerjüngster Zeit (GOETTE) findet man diese und ähnliche Ansichten vertreten.

Zweck meiner Untersuchungen war neben einer Prüfung der Berechtigung solcher Anschauungen das Verfolgen des endgültigen Schicksals der Plasmogamien; im allgemeinen, weil darüber keine

Klarheit herrschte und die widersprechendsten Meinungen vorgebracht wurden, im besonderen, weil ich mir Aufschlüsse über das Verhalten der Chromosomen in verschmolzenen Kernen (die nach den Angaben SCHAUDINN's und SCHÜSSLER's zu erwarten waren) erhoffte: ob und wie eine Regulation der Chromosomenzahl erfolgt. Infolge des (scheinbar) unvermeidlichen letalen Ausgangs jeder Kernverschmelzung bei *Chlamydothryx* wurden diese Erwartungen getäuscht.

Der Klarheit der Darstellung zuliebe lasse ich wieder die Beobachtungsergebnisse, die ich am lebenden Objekt (*Chlamydothryx minor*) gewonnen habe, denen, die aus der Bearbeitung des SCHÜSSLER'schen Nachlasses stammen, vorangehen. SCHÜSSLER hatte, soviel man seiner vorläufigen Mitteilung entnehmen kann, und soweit mir seine sonstigen Ergebnisse durch Prof. HARTMANN mitgeteilt wurden, die Frage nur insoweit geklärt, als er einen Teil des Schicksals der plasmogamischen Individuen verfolgen konnte<sup>1)</sup>, wobei sich die Individualität der lokomotorischen Komponenten in verschmolzenen Kernen ergab. Über die Entstehung der polyenergidigen Formen ist er sich auch noch nicht im klaren gewesen. Sonst gab es auch keine weiteren Angaben in der Literatur — die Literatur über *Chlamydothryx grata* von BREUER ist nicht hinzuzurechnen (Verwechslung mit Kolonienbildung) und so schienen die im folgenden mitgeteilten Beobachtungen völlig neu. Die genaue Lektüre der SCHAUDINN'schen Arbeit zeigte jedoch, daß die Entstehung der Plasmogamien ihm bereits bekannt war. Er schreibt: „Ebenso wie bei *Centropyxis* veranlaßt die Knospungsteilung plasmogamischer Tiere die Ausbildung zahlreicher Monstrositäten... Prinzipielle Unterschiede von den bei *Centropyxis* geschilderten Verhältnissen bestehen aber bei diesen meines Erachtens pathologischen Vorgängen nicht.“ Sehen wir nun bei *Centropyxis* nach, so finden wir: „Besonderes Interesse beanspruchen nun die Teilungen solcher plasmogamisch vereinigter Tiere, die zu einer Fülle von Monstrositäten und Doppelbildungen führen.“ „1. Zwei plasmogamisch verbundene

---

<sup>1)</sup> „Tritt ein plasmogamisches Tier in Teilung ein, so teilt sich meist nur ein Kern, oder die verschiedenen Kerne teilen sich doch ganz unabhängig voneinander. Zuweilen sieht man auch bei der Teilung eines plasmogamischen Kernes deutlich noch zwei Spindeln an die Äquatorialplatte parallel zueinander ansetzen.“ (Dazu die Abbildung in HARTMANN-SCHILLING: die pathogenen Protozoen 1917, ferner die Erwähnung dieser Beobachtung in dem Artikel: Rhizopoda, Handwörterbuch der Naturwissenschaften von HARTMANN.)

Tiere schritten gleichzeitig zur Knospung, ohne ihre Verbindung aufzugeben, sie produzierten gemeinsam eine Tochterschale, die aber noch durch den Besitz eines doppelten Fundus und zweier Kerne mit zwei Chromidialnetzen ihre Entstehung aus zwei Muttertieren kundgab. Dieses zweikernige Monstrum bildete nach längerer Zeit eine Tochterschale . . . Die Kerne waren getrennt geblieben und hatten sich synchron geteilt; also ein zweikerniges Individuum produzierte wieder ein zweikerniges . . . 2. Zwei plasmogamisch verbundene Tiere produzierten gemeinsam ein Tochtertier . . . Es blieb mehrere Stunden zweikernig . . . die Kerne legten sich aneinander und verschmolzen vollständig zu einem vom gewöhnlichen Typus nicht abweichenden Kern. Nach 7 Tagen trat einfache normale Knospung ein. 3. Von zwei plasmogamisch verbundenen Tieren schickt sich nur eines zur Knospung an, der Kern des anderen bleibt in Ruhe, doch verbraucht das erstere bei der Bildung des Tochtertieres das ganze Plasma des anderen bis auf den Kern und die Chromidialmasse, die am Hinterende der im übrigen entleerten Schale zurückbleibt und zugrunde geht. Diese drei Haupttypen sind durch mannigfaltige Übergänge verbunden . . .“

Ich lasse diese Zitate hier deshalb abdrucken, weil sich daraus ergibt, daß SCHAUDINN das Plasmogamiephänomen bei *Chlamydophrys* genetisch bereits völlig geklärt hat, was bis jetzt wegen der knappen Darstellung seiner Resultate unbeachtet geblieben ist. Hätte er uns außer einer vorläufigen Mitteilung noch die ausführliche Arbeit hinterlassen, so wären meine Beobachtungen völlig überflüssig gewesen. Ich lasse deren Resultate jetzt folgen.

#### a) Plasmogamie bei *Chlamydophrys*.

Sämtliche im folgenden mitgeteilten Beobachtungen sind am lebenden Tiere gemacht, teils im hängenden Tropfen, teils direkt auf der Agarplatte.

Der ganze Vorgang (s. Fig. 121 a—k) nimmt seinen Ausgang wie folgt: Eine *Chlamydophrys* teilt sich auf völlig normalem Wege. Aus irgendeinem Grund — wir werden später sehen, aus welchem — bleiben die beiden Tochtertiere mit ihren Pseudopodienstielen bis zum nächsten Teilungsschritt vereinigt. Dieser kann 3—8 Stunden nach der ersten Teilung erfolgen. Sind nun die gesamten äußeren Lebensbedingungen für die beiden Tochtertiere ungefähr gleich geblieben, vor allem die Ernährung, so erfolgt der nächste Teilungsschritt in beiden ungefähr gleichzeitig und

führt zur Entstehung von drei Tieren: zwei ein-kernigen und einem zweikernigen. Die Kerne der beiden Tiere — die in bezug auf das plasmogamische Tier als Muttertiere zu bezeichnen sind — teilen sich nun fast nie völlig synchron. Das Tier, welches sich zuerst teilt, bildet eine Teilungsknospe, alsbald beginnt sich das zweite zu teilen, unterläßt es jedoch, nun auch seinerseits eine solche zu bilden und beteiligt sich, wenn man so sagen darf, an der Teilungsknospe des anderen Tieres. Der weitere Verlauf ist leicht abzusehen: beide Muttertiere pressen ihre Tochterprotoplasten samt Kernen in die gemeinsame Teilungsknospe hinein und es ergibt sich das oben angegebene Resultat.

Suchen wir nun nach einer kausalen Erklärung dieses Vorganges, so ergeben sich folgende Bedingungen für sein Zustandekommen. Erstens: die beiden Muttertiere müssen am Auseinanderkriechen nach der Teilung gehindert sein und beisammen bleiben und zwar entweder infolge Platzmangels auf der Agarplatte oder infolge zu fester Konsistenz des Agars, so daß die Oberflächenspannung der dünnen Wasserschicht, die die Agaroberfläche bedeckt, nicht mehr überwunden werden kann. Sind diese beiden Annahmen richtig, so müssen folgende Versuchsanordnungen Plasmogamien liefern.

1. Man besiedelt eine frische Agarplatte mit sehr vielen Tieren (die man vorher gründlich gewaschen hat, um die Einwirkung von Stoffwechselprodukten auszuschalten; man nimmt sie von einer frischen Kultur, in der noch keine Plasmogamien aufgetreten sind und wäscht in der Zentrifuge). Es muß sich also Platzmangel viel früher fühlbar machen als in einer Kultur mit spärlichem Ausgangsmaterial; Resultat: Plasmogamie. Das Ergebnis dieses Experimentes bestätigte die Erwartungen. Während in einer Kultur, die in der üblichen Weise, von 10—20 Individuen ausgehend, angelegt wird (Petrischalen von 9 cm Durchmesser) die ersten Plasmogamien sich nach 7—8 Tagen bemerkbar machen, traten sie bei einer Ausgangsbesiedelung von ca. 6—8000 Individuen schon nach 4—5 Tagen auf. (Die Kulturen wurden bei konstanter Temperatur 21° C gehalten.) Eine einfache Rechnung zeigt, daß diese 6—8000 Tiere in 4—5 Tagen ungefähr dieselbe Zahl von Nachkommen liefern, wie 10—12 Tiere in 7—8 Tagen.

2. Man kultiviert statt auf 0,5 proz. Agar auf 1 proz. (auf Agar von höherer Konzentration gehen die Kulturen nicht an). Es müssen infolge herabgesetzter Bewegungsmöglichkeit viele Tochtertiere vereinigt bleiben und zweikernige Formen produzieren.

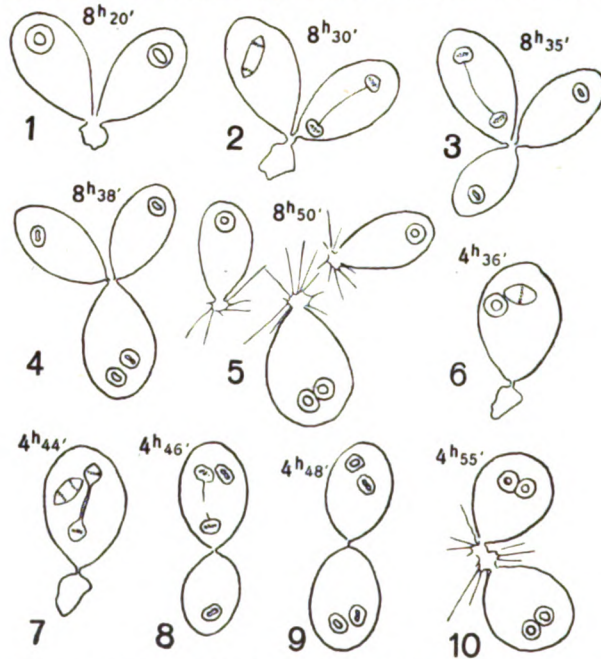
Hier war das Ergebnis noch eklatanter als bei dem vorhergehenden Versuch. Die Plasmogamien traten schon nach 2 Tagen auf (Taf. 8) und nahmen rapid zu, allerdings waren die Tiere nach 5—6 Tagen bereits encystiert (Trockenheit). Umgekehrt konnte bei Kultivierung auf 0,25proz. Agar das Auftreten der ersten Plasmogamien bis auf 17 Tage nach Anlage der Kultur hinausgeschoben werden.

Es ist nunmehr verständlich, weshalb bei gewöhnlicher Kultur die Plasmogamie nur in alten Kulturen auftritt. Erstens stellt sich infolge fortschreitender Vermehrung Platzmangel ein, zweitens trocknet die Platte allmählich aus.

Die zweite, ebenso wichtige Bedingung ist: die beiden Muttertiere müssen sich ungefähr zu gleicher Zeit teilen. Anderenfalls könnten die typischen Rosettenkolonien nicht entstehen. Eine Verschiebung des Teilungsintervalls in den beiden Muttertieren kann durch verschiedene Ursachen bewirkt werden, die in keinem Falle experimentell ermittelt werden können; dies gilt sowohl von inneren Ursachen als auch von ungleichmäßiger Ernährung oder Sauerstoffzufuhr, auch ungleiches Abstoßen von Stoffwechselprodukten kann hier in Betracht kommen.

Sind nun diese beiden Bedingungen: Vereinigtbleiben der Muttertiere und synchrone Teilung deren Kerne gegeben, so ist der Ausgang der Teilung ohne weiteres verständlich. Mag man nun als Agens der Zellteilung Herabsetzung der Oberflächenspannung an der Teilungsknospe oder Freiwerden des infolge Wasseraufnahme erhöhten Binnendruckes annehmen, jedenfalls bilden die vereinigten Pseudopodienstiele, die ja dann zur Teilungsknospe werden, ein einheitliches physikalisches System, welches auf den Teilungsreiz einheitlich reagieren muß — es wäre gar nicht einzusehen, warum das Tier, welches in der Teilung dem anderen „nachhinkt“, noch eine Teilungsknospe für sich anlegen sollte, und überhaupt könnte. Man könnte eventuell denken, daß das sich zuerst teilende Tier den Teilungsreiz auf das andere überträgt, doch zeigt nachfolgende Beobachtung, daß dem nicht so ist. Wenn von zwei mit ihren Pseudopodienstielen vereinigten Tieren eines sich teilt, das andere hingegen keine Anstalten hierzu trifft, so saugt das erstere bei der explosionsartig erfolgenden Zellteilung aus dem in Ruhe verbliebenen etwas Plasma an — ganz nach Art einer Wasserstrahlluftpumpe — was man am besten daran sieht, daß einige Phäosomen des ruhenden Tieres in die Teilungsknospe des anderen hinüberströmen; eine weitere Beeinflussung ist nicht zu konstatieren (wenn eine solche Beeinflussung stattfände,

so wäre die Entstehung von Rosettenkolonien [deren Pseudopodien ja ebenfalls vereinigt sind] undenkbar). Es war noch die Frage zu prüfen, ob die das plasmogamische Tier produzierenden Muttertiere stets Abkömmlinge einer Zelle, also Geschwister sind, oder ob zwei verschiedene Individuen mit ihren Pseudopodien verschmelzen und dann gemeinsam ein neues produzieren können, wodurch der Prozeß den übrigen Plasmogamien genähert wäre. Abgesehen davon, daß eine Pseudopodienverschmelzung höchst selten und nur vorübergehend



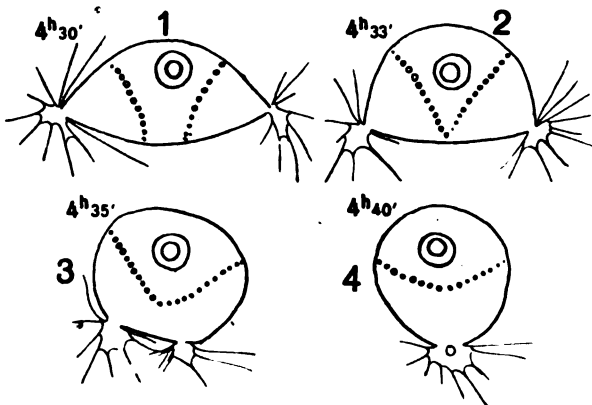
Textfig. N. *Chlamydomorphys minor*, Bildung und Teilung eines plasmogamen Tieres von 8<sup>h</sup> 20' abends bis 4<sup>h</sup> 55' morgens beobachtet (hängender Tropfen). Erhaltung der Phasendifferenz der beiden Kerne. Vergr. 1150  $\times$ .

(Bei der Reproduktion auf  $\frac{3}{4}$  verkleinert.)

auftritt, wäre ja doch die Wahrscheinlichkeit eines annähernd gleichzeitigen Ablaufs der Kernteilung in beiden Tieren, die zur Plasmogamie nötig sind, sehr gering. Ich prüfte die Frage in der Weise, daß ich eine Anzahl von Tieren, die mit Neutralrot vital gefärbt waren, einer Anzahl mit Brillantkresylblau gefärbten Tieren hinzufügte und im hängenden Tropfen beobachtete. Pseudopodienverschmelzung wurde nur bei vier Individuen (in ca. 25 derartigen Versuchen) beobachtet. Plasmogamie im Gefolge einer solchen nie. Eine Schädigung durch die Vitalfärbung war nicht zu konstatieren.

Die Beteiligung von Stoffwechselprodukten an dem Zustandekommen der Plasmogamien kann man in dem hier analysierten Falle völlig ausschließen; erstens reicht die oben gegebene Erklärung völlig aus, zweitens zeigt die Photographie Fig. 137, daß hier eine erheblich größere Individuenzahl vorhanden ist als auf 138 und trotzdem keine Plasmogamien aufgetreten sind.

Die Genese der zweikernigen Formen wäre nunmehr geklärt; verfolgen wir ihr weiteres Schicksal. In ca. 50 Proz. aller Fälle verschmelzen die Kerne miteinander, die Caryosome bleiben eine Zeitlang noch getrennt, dann verschmelzen auch diese. Tiere mit solchen bienergiden Kernen sind nicht mehr lebensfähig, sie degenerieren im Verlaufe von 1—3 Tagen, ohne sich vorher zu teilen — wir werden sehen, daß es bei *Chlamydothryx schaudinni* etwas anders ist. Bleiben die Kerne getrennt, so kann

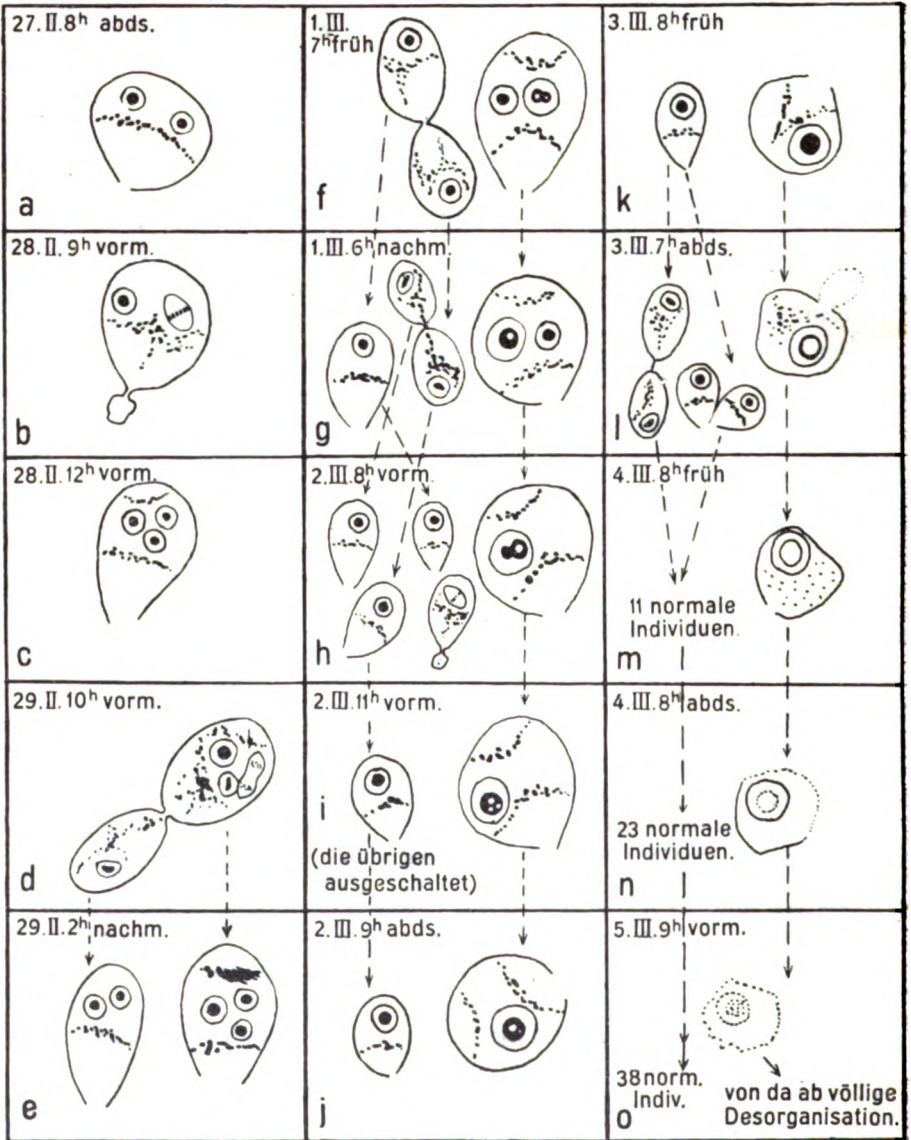


Textfig. O. *Chlamydothryx minor*. 4 Stadien der Umwandlung eines plasmogamischen Tieres mit zwei Mundöffnungen nach dem Leben skizziert (hängender Tropfen). Vergr. 1700 $\times$ . (Bei der Reproduktion auf  $\frac{1}{4}$  verkleinert.)

zweierlei eintreten. 1. Es erfolgt spontane Zellteilung, die das zweikernige Tier in zwei einkernige zerlegt, die sich sodann völlig normal verhalten. 2. Die beiden Kerne teilen sich, manchmal völlig unabhängig voneinander, so daß ein zweikerniges Muttertier ein einkerniges und ein zweikerniges Tochtertier produziert, manchmal aber wieder ungefähr gleichzeitig, so daß wieder zwei zweikernige Individuen resultieren. In einer nicht geringen Zahl von Fällen konnte ich beobachten, daß die beiden Kerne ihre Phasendifferenz, die sie von den zwei monoenergiden Muttertieren her besitzen, im bienergiden Tochtertier beibehalten haben. Eine Betrachtung der Textfig. N erspart eine weitere Schilderung. In Textfig. P ist eine



Beobachtungsreihe wiedergegeben, welche die Entwicklungsmöglichkeiten eines zweikernigen Tieres, welches auf einer Agarplatte

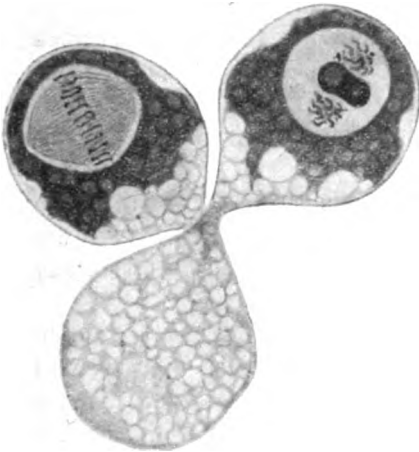


Textfig. P. Entwicklung einer plasmogamischen zweikernigen *Chlamydomorphys* vom 27. Febr. bis 5. März 1920, isoliert auf Amöbenagar 0,5; Isolierung der Tiere erfolgte nach jeder Teilung, Beobachtung alle 2–4 Stunden.

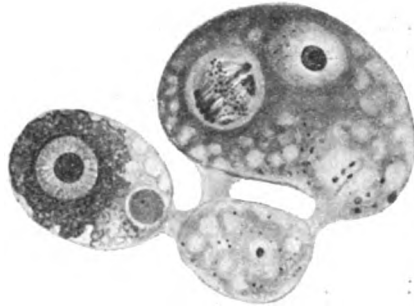
Zriss Obj. DD, Oc. 4. Vergr. 550×.

isoliert wurde, zeigt. Solche Einzelzuchten wurden 26 mal angestellt und ergaben durchaus eindeutige Resultate.

Wenn Cystenbildung zweikerniger Tiere vor der Kernverschmelzung eintritt, so entstehen natürlich auch zweikernige Cysten. Veranlaßt man das Auskriechen (durch Aussaat auf eine frische Platte), so produzieren diese Cysten wieder zweikernige Tiere, deren Kerne jedoch alsbald verschmelzen und so das Schicksal der Tiere besiegeln. Gelegentlich konnte ich jedoch beobachten, daß einer der beiden Kerne in den abgeschnürten Excretballen (siehe oben bei Encystierung) geriet und auf diese Weise eine Regulation (?) herbeigeführt wurde. Die meisten zweikernigen Cysten sterben jedoch schon vor dem Ausschlüpfen der Tiere ab; wenn man eine Platte, auf der sich alle Individuen encystiert haben, ca. 4 Wochen stehen läßt, so schlüpfen überhaupt nur monoenergide Tiere aus; wahrscheinlich erfolgt also auch in den Cysten Kernverschmelzung.



Textfig. Q. *Chlamydrophrys major*,  
Plasmogamie. Vergr. 2300 X.  
(Bei der Reproduktion auf  $\frac{1}{5}$  verkleinert.)



Textfig. R. *Chlamydrophrys schaudinni*.  
Teilung eines plasmogamischen Tieres mit  
zwei Mundöffnungen. Vergr. 1400 X.  
Nachgelassene Zeichnung von H. Schüssler.

Erwähnt seien noch die Monstra mit zwei Mundöffnungen, welche auf die Weise entstehen, daß die beiden Muttertiere einander so gegenüberliegen, daß ihre Hauptachsen zusammenfallen (Fig. 125). In der Mehrzahl aller Fälle wird diese Mißbildung in der Weise korrigiert, daß die Mundöffnungen sich einander nähern, um schließlich zu verschmelzen (Textfig. O, zur Darstellung gelangte ein Tier mit bereits verschmolzenen Kernen). Die Teilung eines solchen Tieres, bei dem die Schalenöffnungen einander stark genähert sind, zeigt Textfig. R. für *Chlamydrophrys schaudinni*.

Die Entstehung der drei- und mehrkernigen Formen (die ziemlich selten beobachtet wurden), sei hier nur kurz erwähnt, diese Vorgänge zeigen nichts von dem vorhin beschriebenen prinzipiell Verschiedenes und können daher kein weiteres Interesse beanspruchen. Bilden zwei bienergide Tiere plasmogamisch ein neues, so ist das Resultat natürlich: zwei zweikernige, ein vierkerniges Tier (eventuell dreikernig) usw. Es können auch mehr als zwei Tiere zusammen ein plasmogames Individuum produzieren, doch kommt dies bei der sehr geringen Wahrscheinlichkeit einer gleichzeitigen Teilung von mehreren Individuen nur äußerst selten vor. Fig. 124 zeigt diesen Fall bei *Chlamydothryx schaudinni*. Ich habe bis zu sieben Kerne in einem Tier gezählt, die in verschiedenem Maße miteinander verschmelzen können. Solche polyenergide Formen haben überhaupt jedwede Fortpflanzungsfähigkeit eingebüßt und verfallen bald der Degeneration.

Ein physiologisch interessanter Punkt wäre noch zu erwähnen. Wenn in einer Rosettenkolonie sich ein bi- oder polyenergides Individuum befindet, so kann dieses seine übrigen monoenergiden Genossen in der Weise schädigen, daß deren Plasma immer mehr abnimmt und sie schließlich degenerieren (Fig. 2). Welchem Umstand dies zuzuschreiben ist, ob Nahrungsentzug oder aktiver Schädigung, vermochte ich nicht zu ermitteln.

Bei *Chlamydothryx major* und *parva* kommt die im vorstehenden beschriebene Art von Plasmogamie in derselben Weise vor, wie Textfig. Q zeigt. Auch hier konnte keinerlei Weiterentwicklung von verschmolzenen Kernen konstatiert werden.

Anders jedoch liegt die Sache bei *Chlamydothryx schaudinni*. Die Entstehung der plasmogamen Tiere ist die gleiche. Ferner wird meine hier vorgebrachte Ansicht über die Ursachen dieses Vorganges durch die Beobachtung gestützt, daß in Kulturen auf Kaninchenkot die absolute Zahl der plasmogamen Tiere bei geringer Individuenzahl größer war als in Agarkulturen bei erheblich größerer Individuenzahl; auch hier ist also der Wassergehalt des Mediums das bestimmende Moment. Einige neue Beobachtungen können das Bild, das wir uns von den plasmogamischen Prozessen bei *Chlamydothryx* machen können, um wesentliches ergänzen. Erstens können sich verschmolzene Kerne teilen, wobei zu konstatieren ist, daß — wenn auch nicht immer — die polyenergide Natur des Kernes sich durch die Ausbildung mehrerer Spindeln dokumentiert (Fig. 129—132), doch läßt sich aus den fast immer pathologisch modifizierten Endstadien (Fig. 133, 134) sowohl der Kern- als auch der Zellteilung mit Sicherheit der Schluß ziehen, daß diese Kernteilungen den Untergang des Tieres wohl um ein

weniges hinauszuschieben, nicht aber gänzlich aufzuhalten imstande sind. Sehr oft unterbleibt überhaupt die Anlage einer Teilungsknospe (Fig. 130). Simultane Kernteilung (Fig. 125), sowie spontane Zellteilung kommt hier ebenso vor wie bei *Chlamydothryx minor*. Letztere kann auch ausgelöst werden, trotzdem die Kerne verschmolzen sind und sich nicht teilen (Fig. 127), so daß eine kernlose Tochterzelle produziert wird (siehe auch bei *Pamphagus*). Ferner zeigt uns *Chlamydothryx schaudinni* einen weiteren Regulationsmodus, durch den ein bienergides Individuum wieder monoenergisch werden kann: indem nämlich einer der beiden Kerne pyknotisch wird und der Resorption anheimfällt (Fig. 136). Ob eine solchermaßen „regulierte“ Zelle dauernd lebensfähig bleibt, ist natürlich die Frage, jedenfalls kamen solche Stadien in den Präparaten oft vor.

Kommen wir noch einmal auf die Bedeutung der Plasmogamie zurück, so läßt sich nunmehr mit Bestimmtheit jegliche Deutung derselben als sexuellen Prozeß ablehnen. Für einen Befruchtungsvorgang muß der Nachweis verlangt werden: 1. einer Reduktionsteilung; 2. einer Weiterentwicklung der Zygote zu normalen vegetativen Individuen. Dieser Nachweis konnte weder hier, noch bei sonst einem Fall von Plasmogamie erbracht werden. Zieht man dazu außer dem letalen Ausgang der Kernverschmelzung noch in Erwägung, daß nicht nur zwei, sondern mehrere (nach SCHAUDINN bis zu 12) Individuen (oder Energiden) zu einer Plasmogamie sich vereinigen können, so werden alle Spekulationen, die die Plasmogamie als Vorstufe oder Art von Befruchtung ansprechen, ad absurdum geführt.

Und wenn man hier, wo man bei flüchtiger Betrachtung wirklich an einen Prozeß glauben möchte, der im Entwicklungskreis von *Chlamydothryx* eine feste Stellung einnimmt, diesen Prozeß auf rein physikalische Ursachen zurückführen kann (ich möchte hier noch ausdrücklich hervorheben: die Plasmogamie ist hier nicht pathologisch determiniert, sondern wird es erst durch die Kernverschmelzung), so erscheint die Verallgemeinerung der hier mitgeteilten Ansichten auf alle Arten von Plasmogamien (also auch Copulation und Conjugation von *Diffugia* und *Euglypha*, Chromidiogamie usw.) wohl berechtigt.

Nach meinen Beobachtungen erscheint die Plasmogamie bei *Chlamydothryx* als ein durch die Eigenart der Kultivierung auf Agarplatten bedingter Vorgang, dem keinerlei weitere Bedeutung für das Leben dieser Rhizopoden beizumessen ist. Es hat daher auch keinen Zweck, sich mit den neuesten Ausführungen von GOETTE

über Ursachen und Zweck der Plasmogamie auseinanderzusetzen. Meiner Ansicht nach ist die entwicklungsgeschichtliche Seite dieses Phänomens auf den vorstehenden Seiten erschöpfend behandelt und sind darüber die Akten zu schließen.

Die Plasmogamie<sup>1)</sup> ist also zu definieren als: Mehr oder weniger weitgehende Verschmelzung der Protoplasten zweier oder mehrerer Protozoen, entweder vorübergehend und dann von keinerlei Bedeutung für die fernere Entwicklung oder dauernd und dann mit pathologischen Erscheinungen im Gefolge. Eine im letzteren Fall eintretende Kernverschmelzung ist unbedingt letal. Die Plasmogamie ist eine durch äußere Bedingungen hervorgerufene Erscheinung und steht zur Sexualität in keinerlei Beziehung.

#### b) Die Depression bei *Pamphagus hyalinus*.

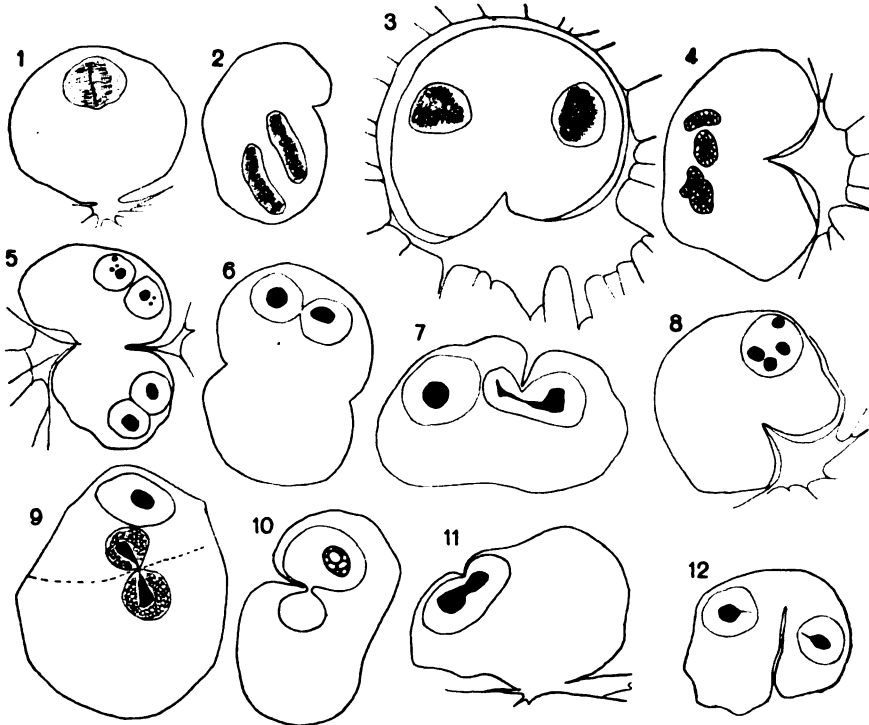
Obwohl ich bisher davon Abstand genommen habe, die verschiedenen pathologischen Stadien, die in meinen Kulturen auftraten, zu beschreiben, möchte ich sie bei *Pamphagus* doch einer genaueren Darstellung unterziehen, weil sich aus diesen, im folgenden mitgeteilten Beobachtungen einige Schlußfolgerungen allgemeiner Natur ziehen lassen.

In alten Kulturen, wenn die Individuenzahl stark erhöht ist und reichlich Stoffwechselprodukte angehäuft sind (wenn man das Wasser nicht wechselt), treten bestimmte Depressionsformen auf. Dieselben Formen treten im hängenden Tropfen ungefähr nach 36 bis 48 Stunden auf; ich bezeichne sie deshalb als Depressionsformen, weil sie unter gewissen Umständen wieder zu normalen Tieren werden können.

Das erste Kriterium dieser Formen ist der allmähliche Verlust der zonaren Gliederung; alle drei Zonen des Protoplasten erscheinen wie gleichmäßig durchmischt. Im Leben zeigen diese Tiere ein gleichmäßig grau getüpfeltes Plasma, weil die Phäosomen, die diese Tüpfelung hervorrufen, diffus verteilt sind. Im fixierten Präparat präsentiert sich das Plasma wie in Textfig. T (vgl. mit Textfig. K!).

<sup>1)</sup> Ich halte es nicht für nötig, statt dieses, eigentlich irreführenden (der Stamm „gam“ bedeutet ja in allen Terminus irgendeine Beziehung zur Sexualität) Ausdruckes einen neuen einzuführen; erstens ist der Terminus gut eingebürgert und auch mit dem allgemeinen Bild der durch ihn bezeichneten Vorgänge fest verknüpft, und zweitens ist es ja allgemeines Sprachschicksal, daß das Wort das Bestehende und der Sinn das Vergängliche ist.

Beim weiteren Fortschreiten der degenerativen Prozesse zeigen sich auch am Kern Veränderungen; der Außenkern hat nicht mehr die feine Alveolenstruktur, sondern erscheint als typisches „Reticulum“ (Textfig. T). Bis zu diesem Zeitpunkt gehen alle Lebensprozesse ungestört vor sich; die Pseudopodien sind ausgestreckt und lebhaft tätig, Nahrung wird aufgenommen, verdaut und abgegeben. Sobald sich jedoch der Kern eines derart veränderten Tieres zu teilen beginnt — eine völlig normale Mitose — tritt die erste Abnormität

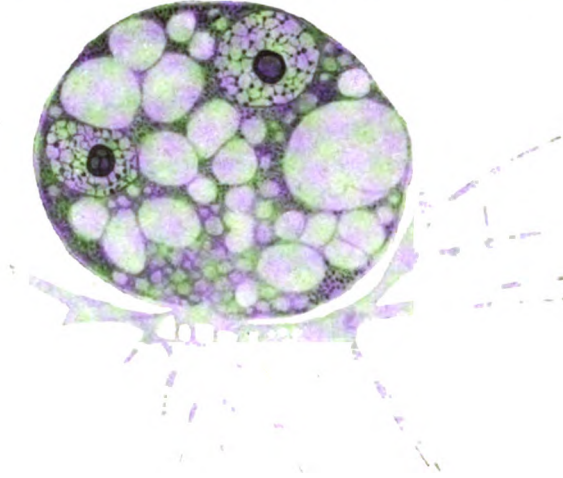


Textfig. 8. *Pamphagus hyalinus*. Depressionsformen. Nach Totalpräparaten. Nur die Kerne etwas detailliert gezeichnet. Vergr. 575  $\times$ .

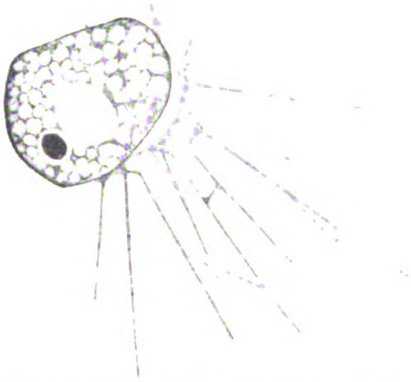
auf: es unterbleibt die Zellteilung (Textfig. S, 2). Die beiden Tochterkerne rekonstruieren sich und können sich nach Ablauf von 5–11 Stunden wieder und zwar simultan teilen, wobei wiederum die Zellteilung unterbleibt (Textfig. S, 2–4). Weitere Kernteilungen wurden nicht beobachtet. Es resultieren also zunächst zwei-, später vierkernige Tiere.

Schon in den zweikernigen, weit häufiger jedoch in den vierkernigen Individuen können nunmehr zwei Prozesse, voneinander

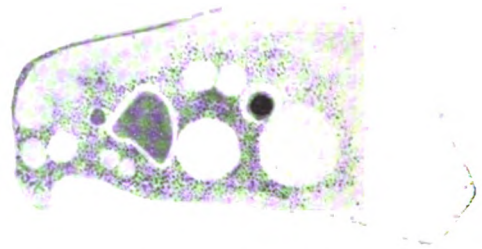
gänzlich unabhängig, sich abspielen. Erstens Kernverschmelzung, zweitens Zellteilung. Die Kerne verschmelzen in den verschiedensten Graden miteinander, es können dabei diverse Kombinationen auftreten — zwei, drei und alle vier Kerne miteinander verschmelzen.



Textfig. T. *Pamphagus hyalinus*. Typische zweikernige Depressionsform nach fixiertem Präparat. (P.E.H.) Vergr. 1150 X. (Bei der Reproduktion auf  $\frac{1}{5}$  verkleinert.)

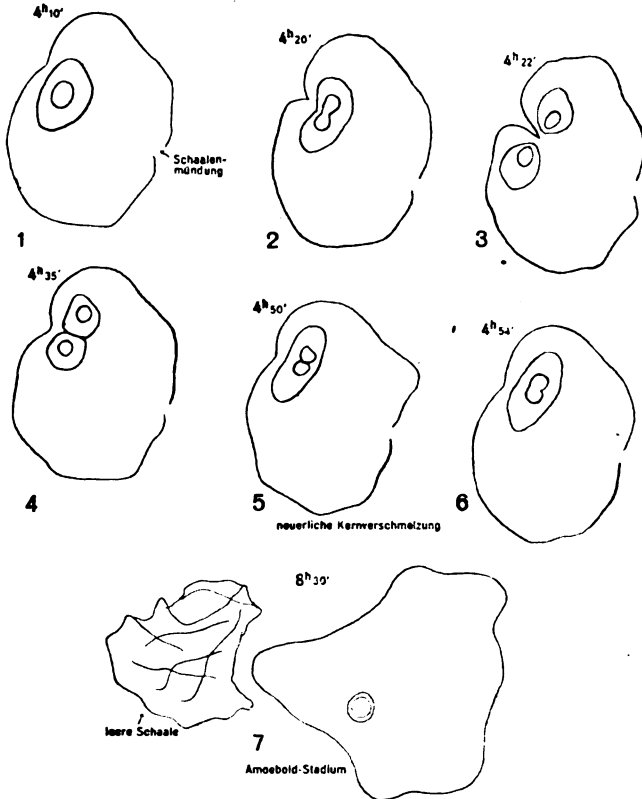


Textfig. U. *Pamphagus hyalinus*. Kernlose Depressionsform nach fixiertem Präparat. (S.A.H.) Vergr. 1150 X. (Der dunkle Einschluß ist eine Goniumzelle.) (Bei der Reproduktion auf  $\frac{1}{5}$  verkleinert.)



Textfig. V. *Pamphagus hyalinus*. Amöboides Depressionsstadium nach gefärbtem Präparat. (P.E.H.) Vergr. 1150 X. (Bei der Reproduktion auf  $\frac{1}{5}$  verkleinert.)

Auch hier jedoch — und das ist das Wichtigste — zeigt sich dasselbe Phänomen wie bei *Chlamydrophrys*: sobald ein Kern mit dem anderen verschmilzt, ist das Produkt dem Untergang geweiht, der unter Umständen den des ganzen Individuums nach sich zieht. Die Zellteilung kann ebenfalls ganz wahllos eintreten, es ist das nicht mehr als Zellteilung, sondern als Zellzerschnürung, besser -zerlappung zu bezeichnen. Irgendwo bildet sich an der Zelloberfläche eine Furche, schneidet ein und zerteilt den Protoplasten mehr oder minder voll-



Textfig. W. Aufeinanderfolgende Umformungsstadien einer bienergiden Depressionsform von *Pamphagus hyalinus* nach dem Leben (hängender Tropfen). Vergr. 575 X.

ständig in zwei Stücke. Der Prozeß vollzieht sich völlig autonom, was am besten daraus zu entnehmen ist, daß er in keinerlei Beziehung zur Lage der Kerne steht. Ist das betreffende Tier z. B. vierkernig, so kann es zerfallen: entweder a) in zwei zweikernige (Textfig. S, 5), oder b) in ein drei- und ein einkerniges, oder c) in ein vierkerniges und ein kernloses Stück. Letztere (Textfig. U)



sind natürlich nicht mehr lebensfähig, doch können sie bis zu 12 Stunden ungestört herumkriechen, dann sterben sie ab. Noch mehr: wird die Teilungsfurche so angelegt, daß sie bei weiterer Einschnürung gerade einen der Kerne trifft, so wird derselbe ebenso willkürlich zerschnürt wie der Protoplast. Wird der Kern ungefähr halbiert, so „kommt“ das Caryosom der Zerschnürung „entgegen“, d. h. es schnürt sich selbst ein (Textfig. S, 7, 9, 11) und der Kern „teilt sich“ amitotisch. Der passive Charakter dieser „Kernteilung“ ist jedoch sinnfällig. Textfig. S, 10 zeigt, daß auch caryosomlose Stücke vom Kerne abgetrennt werden können (die beträchtliche Größe des Kernes zeigt, daß es sich um ein Verschmelzungsprodukt handelt). Statt einer können auch mehrere Teilungsfurchen gebildet werden, es wurden jedoch gleichzeitig nie mehr als drei beobachtet.

Die Zellteilung kann jedoch wieder rückgängig gemacht werden, wenn sie nicht zu weit vorgeschritten ist. Textfig. W zeigt uns dies in deutlicher Weise. Das Tier besitzt einen Kern, der aus zwei Kernen entstanden ist. Die Furche schnürte den Protoplasten ein, im weiteren Verlauf erfolgte Amitose des Kernes, dann wurde die Furche rückgebildet, die Kerne rückten zusammen und verschmolzen neuerdings miteinander. Schließlich degenerierte das Tier völlig unter Auftreten der Amöboidform.

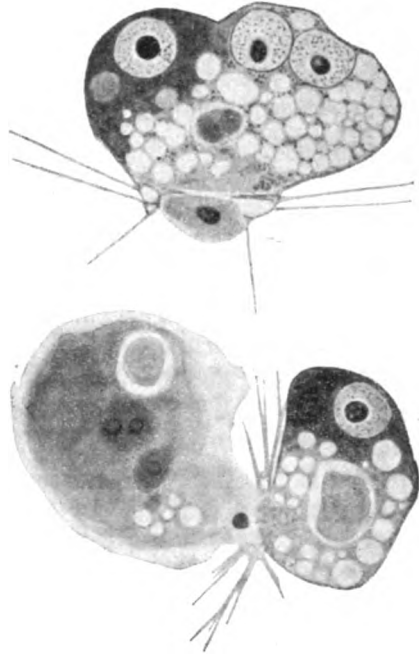
Und damit kommen wir zum unvermeidlichen Ausgang dieser Erscheinungen. Früher oder später werden die Pseudopodien eingezogen und der Protoplast stirbt entweder innerhalb der Schale ab, oder aber er schlüpft aus derselben aus und kriecht noch einige Zeit (bis zu 10 Stunden) als limaxartige Amöbe träge herum, um sodann abzusterben. Die Schale bleibt als faltiges Häutchen zurück. Den Habitus dieser Amöbe zeigt Textfig. V nach einem fixierten Präparat: der Außerkern ist stark reduziert, Ecto- und Entoplasma deutlich gesondert; das Präparat zeigt auch, daß die Klebrigkeit des Ektoplasmas noch nicht behoben ist. Nahrungsaufnahme findet nicht mehr statt.

Es gibt aber noch einen anderen, günstigeren Verlauf dieser Prozesse. Genau so wie sich die Zonen des Protoplasten durchmischen können, ebenso können sie partiell wieder entmischt werden, so daß Formen entstehen, wie sie Textfig. X zeigt. Schnürt nun der „blindlings“ arbeitende Zellteilungsmechanismus eine solche Partie mit entmischem, zonargegliedertem Cytoplasma und nur einem Kern ab, so ist dieses Stück lebensfähig und kann wieder den Ausgang einer Reihe von Zellgenerationen bilden. Gewonnen wurde dieses Resultat auf die Weise, daß einzelne Depressionsformen in hohlge-

schliffenen Objektträgern bei häufigem Wasserwechsel konstant beobachtet wurden — die entmischten Partien der Tiere sind ja an der glasklaren Chromidialkappe schon bei schwacher Vergrößerung zu erkennen. Zwei Stadien dieses Vorganges zeigt Textfig. X, 1 Den Beginn: die lebensfähige, zonar gegliederte Partie wird soeben abgeschnürt, von den drei Kernen der restlichen Zellpartie ist einer ausgestoßen worden und liegt vor der Schalenöffnung. 2 zeigt ein vorgeschrittenes Stadium, der absterbende Teil des Tieres besitzt einen ein- und einen zweiwertigen Kern. Damit ist auch die Berechtigung der Bezeichnung „Depressionsformen“ gegeben, da der letale Ausgang dieser Prozesse kein unbedingter ist.

Zusammenfassend kann man also sagen: Anhäufung von Stoffwechselprodukten führt das Auftreten von Depressionsformen herbei, die empfindlichste Störung des gesamten Zellenlebens scheint durch die Vermischung der Zonen des Protoplasten zu erfolgen und zeigt sich 1. in der unterdrückten Zellteilung nach erfolgter Kernteilung, 2. in autonomer Zellteilung, die die Zelle wahllos zerstückelt, 3. in ebenso autonomer Kernverschmelzung; letztere ist letal. Dem Absterben gehen die amöboiden Formen voraus. Lebensfähige Tiere können nur dann aus den Depressionsformen entstehen, wenn Entmischung der Protoplasten erfolgt und ein monoenergidestück mit wohl ausgebildeter Zonengliederung abgetrennt wird.

Die zonare Gliederung scheint somit ein lebenswichtiger Faktor zu sein.



Textfig. X. *P amphagus hyalinus*.

Vierkernige Depressionsformen. Abschnürung lebensfähiger monoenergidestück.

Pikrinessigsäure, Hämalaun. Vergr. 1150 X.

1. Beginn der Abschnürung, links das lebensfähige Individuum, vor der Mundöffnung der 4. Kern, ausgestoßen.

2. Abschnürung vollendet, im degenerierenden Rest Kern 2+3 verschmolzen, Kern 4 einzeln.

## 10. Allgemeine Bemerkungen.

a) Zur Konstitution der Protistenkerne. Einige Schlußfolgerungen allgemeinerer Natur mögen die Darstellung beschließen. Einigen Einblick in die Konstitution der Protistenkerne können wir vielleicht durch die Betrachtung der verschiedenen Kernteilungsbilder, die im vorstehenden beschrieben wurden, erhalten.

Zunächst was die Chromosomen anbelangt. Bei der Frage, ob man die in der Äquatorialplatte der Protistenmitosen eintretenden mehr oder weniger basophilen Elemente mit den Chromosomen der Vielzelligen ohne weiteres homologisieren darf, spielt neben dem Nachweis ihrer Zahlenkonstanz (der hier für *Rhogostoma* erbracht wurde; außerdem scheint mir auch in dieser Richtung der unbedingt letale Ausgang der Verschmelzung von weder sexuell differenzierten noch haploiden Kernen nicht ohne Bedeutung zu sein, obwohl man die tiefgreifenden Störungen, die eine solche Verschmelzung [siehe *Chlamydomphrys* und *Pamphagus*] zur Folge hat, nicht mit Bestimmtheit auf die willkürliche Vervielfachung der Chromosomenzahl zurückführen kann), die Frage: Längs- oder Querteilung? eine gewisse Rolle. Ersterer Teilungsmodus wurde bis jetzt bei Protisten nur selten nachgewiesen, die meisten zeigen Querteilung ihrer chromatischen Elemente. Wenn man jedoch sieht, wie sich bei *Rhogostoma* (auch bei *Chlamydomphrys*) in der Prophase ein typisches Spirem ausbildet, welches weiterhin in Chromatinschleifen zerfällt, die sich allmählich verkürzen, so kann man (nach dem Prinzip der vergleichenden Morphologie, aus gleichartigen Anfangsstadien zweier Prozesse auf die Gleichartigkeit der verschiedenen Endstadien zu schließen), auch hier eine Längsteilung der Chromosomen annehmen. Bei einem Chromosom, welches in der Metaphase alle drei Dimensionen gleichmäßig ausgebildet zeigt, kann man ja nie von Längs- oder Querteilung sprechen (siehe viele Insektenchromosomen). Und wenn in der Anaphase eine derartige Streckung des Chromosoms eintritt, daß seine Teilung den Eindruck einer Querteilung macht, so ist das eben auf Rechnung des Anaphasemechanismus zu setzen. Von solchen Fällen, wie *Rhogostoma*, wo also die Querteilung der Chromosomen als verkappte Längsteilung anzusprechen wäre, läßt sich dann auch auf die Mehrzahl der übrigen Fälle, wo die Chromosomen von vornherein als kurze Stäbchen oder Sphäroide ausgebildet werden, derselbe Schluß ziehen. Somit wäre die Homologie zwischen Metazoen- und Protistenchromosomen von diesem Gesichtspunkt aus durchaus berechtigt.

Auf die theoretische Wichtigkeit der Kernteilung von plasmogamen Kernen bei *Chlamydothryx schaudinni* hat schon HARTMANN (1914 u. 1917) hingewiesen. Es sei hier noch einmal darauf eingegangen. Nach HARTMANN steht in jedem Protistenkern der generativen Komponente — den Chromosomen — die lokomotorische als gleichwertig morphologisch individualisierter Strukturenkomplex zur Seite. Der Umstand nun, daß wohl erstere bei allen Protistenkernen sich innerhalb eines gewissen Spielraumes gleichbleibt und bei verschiedenen Kernteilungstypen leicht zu homologisieren ist, während die letztere einer viel größeren Variabilität (im Sinne der Morphologie) unterworfen ist und bald als Centriol, Nucleolocentrosom, Polkappe oder diffuse Spindelfaserung auftritt, dieser Umstand hat zu Bedenken gegen die Individualität der lokomotorischen Komponente geführt, deren Berechtigung z. T. nicht abzuleugnen ist und die zuletzt von KÜHN (1920) eine ausführliche Darlegung erfahren haben. Wenn man jedoch feststellen kann, wie bei *Chlamydothryx* die lokomotorische Komponente, die Spindelsubstanz, so gar nicht morphologisch scharf definiert ist — sie entsteht ja aus dem amorphen Alveolensystem des Außenkernes — und diese Komponenten sich trotzdem in einem polyenergidem Kern — bei dem sie im Ruhezustand ebenfalls völlig im amorphen Außenkern aufgegangen sind — bei dessen Teilung unter Umständen voneinander zu trennen imstande sind (Fig. 132), so ist damit ihre Individualität selbst für einen so zweifelhaften Fall erwiesen.

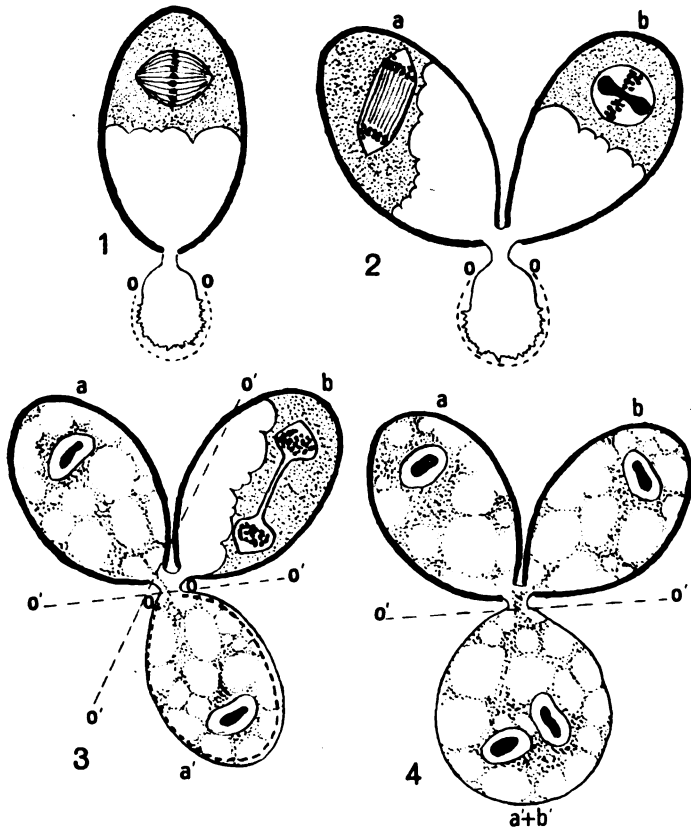
b) Zur Zellteilungsmechanik. Auf Wege, auf denen man den Problemen der Zellteilungsmechanik näher treten kann, wird man gewiesen, wenn man die Beobachtung der normalen Zellteilung von *Chlamydothryx* durch die der Plasmogamie ergänzt. Schon erstere zeigt, wie schon oft hervorgehoben (BÜTSCHLI, RHUMBLER) eine deutliche Beziehung zwischen Zellteilung und Wasseraufnahme. Für letztere möchte ich die geringere Färbbarkeit der Chromidialkappe bei sich teilenden Thecamöben nicht als Beweis heranziehen, sondern bloß darauf hinweisen. Eher in Betracht zu ziehen wäre die erhöhte Neigung zum Schrumpfen (worauf im speziellen Teil bei jedem Objekt ausdrücklich hingewiesen wurde).

Der beste Beweis scheint mir die Deformierung der Schale bei Beginn der Teilung zu sein, die das Vorhandensein eines erhöhten Binnendruckes anzuzeigen scheint. (Man vergleiche Fig. 1 mit 3, Fig. 56 mit 59, Fig. 74 mit 76). Ferner den Umstand, daß die beiden Tochtertiere ungefähr doppelt so viel Vakuolen enthalten als das Muttertier; wenn man zugibt, daß dieses Wasser schon vor

der Zellteilung in der Mutterzelle gespeichert war, so ist man zu der Annahme gezwungen, daß es in irgendeiner Form an die Kolloide des Protoplasten (vielleicht der Chromidialkappe) gebunden war und im Moment der Zellteilung frei wird (siehe die Ausführungen von SPEK über den Zusammenhang von Quellung und Zellteilung). Wodurch wird nun die Zellteilung, das eruptive Herausquellen des Protoplasmas direkt bewirkt? Es sind zwei Annahmen möglich: 1. Durch irgendeinen Anstoß (Durchreißen des Verbindungsstückes der beiden Tochterkerne) erfolgt eine plötzliche Entquellung des Protoplasmas, das Wasser wird frei, mischt hierbei das Protoplasma durch und strömt solange nach außen, bis das Gleichgewicht zwischen Binnendruck und Oberflächenspannung wieder hergestellt ist. 2. Die Oberflächenspannung an der Teilungsknospe erfährt eine plötzliche Herabsetzung und bewirkt auf diese Weise die Zellteilung. Welcher von den hier vorgetragenen Ansichten ist nun der Vorzug zu geben? Eine genaue Analyse der Entstehung der Plasmogamien läßt uns vielleicht auch ohne Experimente (die anzustellen ich später beabsichtige) die Entscheidung treffen (Textfig. Y). Prüfen wir zunächst die Annahme 2, also die Herabsetzung der Oberflächenspannung an der Grenzfläche:  $o-o$  (nacktes Protoplasma der Teilungsknospe — Wasser). Dadurch, daß sich im Stadium der Textfig. Y, 3 die Tochterzelle  $a'$  des Tieres  $a$  mit einer dünnen Schale umgeben hat (ihr Protoplasma somit an eine feste Substanz grenzt), tritt diese Grenzfläche außer Kraft und trotzdem spielt diese Tochterzelle  $a'$  der sich später teilenden Zelle  $b$  gegenüber noch die Rolle einer Teilungsknospe. Es wäre nun denkbar, daß für die Zellteilung der Zelle  $b$  eine neue Grenzfläche aktiv wurde, da ja das Protoplasma der bereits geteilten Zellen  $a$  und  $a'$  einen Konsistenzunterschied gegenüber dem der Zelle  $b$  aufweist. Daß also eine Herabsetzung der Oberflächenspannung an der Grenzfläche  $o'-o'$  (Protoplasma der Zelle  $b$  — Protoplasma der Zelle  $a'$ ) die Zellteilung des Tieres  $b$  bewirkt. Nach der Teilung von Zelle  $a$  weisen jedoch sowohl diese Zelle wie auch die junge Tochterzelle  $a'$  dieselbe Konstitution auf; in beiden ist das Protoplasma in gleicher Weise durchmischt. Warum fließt nun das Protoplasma der Zelle  $b$  nie in Zelle  $a$ , sondern stets in Zelle  $a'$ , wenn für beide Möglichkeiten die gleichen Bedingungen vorliegen? Die Antwort lautet, weil sich Zelle  $a'$  von Zelle  $a$  nur durch die um vieles dünnere Schale unterscheidet und diese daher durch ihre Dehnungsfähigkeit dem freiwerdenden Binnendruck von Zelle  $b$  die Möglichkeit bietet, das Protoplasma in die Zelle  $a'$  hineinzupressen,

die ihm für die Zelle a wegen der nicht mehr genügend dehnbaren Schale versagt ist.

Ist diese Argumentation richtig — und das müssen entsprechende Experimente zeigen — so lehrt sie uns, daß die Zellteilung von verschiedenen Faktoren mechanisch bedingt sein kann, Wasserdruck sowohl wie Oberflächenspannungsdifferenzen; was weiter noch dazu kommt, wissen wir nicht.



Textfig. Y. Schematische Darstellung der normalen Zellteilung (1) und der Plasmogamie (2—4) bei *Chlamydomyces*. Die Dicke der Schale ist relativ übertrieben

Hier ist auch der Ort, um die Zellteilungstheoretiker, die die Strahlungssysteme der Metazoenzelle als unentbehrlichen Faktor für die Zellteilung in Betracht ziehen, noch einmal darauf hinzuweisen, daß bei den Protozoen in der Mehrzahl aller Fälle solche Strahlungen im Plasma gänzlich fehlen. Für den Teilungsmechanismus des Chromatins sind die faserigen Differenzierungen offenbar unentbehr-

lich; das Übergreifen ihrer Wirkung auf das Cytoplasma ist aber wohl ein Phänomen von sekundärer Wichtigkeit.

c) Zur Beziehung zwischen Kern- und Zellteilung. Und noch eine andere Seite des Zellteilungsproblems gestatten uns die vorstehenden Ergebnisse zu betrachten. Schon früher (BÜTSCHLI) wie in allerjüngster Zeit durch SPEK<sup>1)</sup> ist die Ansicht ausgesprochen worden, daß das primär auslösende Moment der ganzen Zellvermehrung (Kern- und Zellteilung) nicht vom Kern, sondern vom Plasma — eben durch die in vielen Fällen nachgewiesene Wasseraufnahme und die in ihrem Gefolge auftretenden chemischen Umsätze — ausgeht, wodurch die ganze Auffassung des Zellteilungsmechanismus wesentlich erleichtert wäre. Die Fig. 126, 127 zeigen uns das gerade Gegenteil. Schon bei der gewöhnlichen Teilung sehen wir die ersten Veränderungen am Kern vor sich gehen, bevor noch das Plasma irgendwelche Vorbereitungen zur Teilung trifft. Die vielkernigen (resp. bei Kernverschmelzung polyenergidigen) Formen von *Pamphagus* und *Chlamydomphrys*<sup>2)</sup> zeigen uns jedoch (neben der relativen Unabhängigkeit von Kern- und Zellteilung), daß die Zellteilung unabhängig von einem Kernteilungsprozeß jederzeit eintreten kann, sobald mehr als ein Kern (resp. Energide bei Verschmelzungskernen) in einer gemeinsamen Plasmaportion sich befindet, daß also die erfolgte Individualisierung zweier oder mehrerer Energiden (welche ja unter normalen Verhältnissen durch die erfolgte Zweiteilung der beiden Kernkomponenten bei der Mitose gegeben ist, also vom Zeitpunkt der Anaphase an) den Teilungsreiz für das Plasma jederzeit durch ihr bloßes Vorhandensein zu geben imstande ist. Die Kernteilung ist also immer das primäre, sie löst die Zellteilung aus, nicht umgekehrt.

d) Amitose. Anschließend an die Beobachtung an die atypische Kernteilung von *Chlamydomphrys schaudinni* und die Depressionsformen

<sup>1)</sup> SPEK nimmt, um seine Auffassung zu stützen, als Beispiel die Teilung von *Euglypha* nach SCHEWIAKOFF, bei der die Teilungsknospe schon lange bevor die ersten Veränderungen am Kern Platz greifen, angelegt wird. Selbst wenn die Darstellung SCHEWIAKOFF's bis in die feinsten Details einwandfrei wäre, so müßte man doch nach der überwiegenden Mehrzahl aller Fälle, wo das Gegenteil der Fall ist, annehmen, daß auch hier die Veränderungen am Kern bereits begonnen haben, wenn die Teilungsknospe angelegt wird, nur für uns noch nicht wahrnehmbar.

<sup>2)</sup> Genau dasselbe Phänomen beobachtet HEGNER bei *Arcella*, wo sich ein (normales) zweikerniges Tier spontan ohne vorhergehende Kernteilung in zwei eukernige Tiere teilt.

von *Pamphagus hyalinus* noch ein paar Worte über die Amitose. Dieser Terminus wurde zu einer Zeit geprägt, wo man der Ansicht war, daß zwei gleichwertige Kernteilungsmodi, Mitose und Amitose, nebeneinander existieren. Trotzdem sich die Stimmen derer immer mehrten, welche behaupteten, daß die einzige Vermehrungsart von Kernen, die ihre volle Lebens- und Fortpflanzungsfähigkeit noch besitzen, die Mitose ist, trotzdem BÜTSCHLI schon vor mehr als 40 Jahren die Vermutung ausgesprochen hat, daß sich alle bisher als amitotisch angesprochenen Kernteilungsvorgänge bei Protisten als Mitosen entpuppen würden und obwohl sich diese Vermutung glänzend bewahrheitet hat, so wird doch von mancher Seite noch immer die Amitose, speziell für Protozoen als mit der Caryokinese gleichwertiger Kernvermehrungsprozeß bezeichnet. So z. B. steht in einem der neuesten Lehrbücher der Zoologie (O. STECHE, 1919): „Viel häufiger ist dieser einfache Teilungsmodus bei den Protozoen. Dies entspricht der natürlichen Annahme, daß die komplizierte, indirekte, sich aus der einfachen direkten Teilungsform entwickelt hat. Doch zeigen neue Untersuchungen immer deutlicher, daß Mitosen oder wenigstens mitosenähnliche Teilungen schon (!) bei Einzelligen aller Gruppen weit verbreitet sind.“ — Kein Protozoenkern (dessen Teilung einigermaßen genau bekannt ist) teilt sich amitotisch, solange er seine volle, unbegrenzte Vermehrungsfähigkeit — die Unsterblichkeit des Keimplasmas — noch besitzt; alle Angaben über Amitose als normalen Kernteilungsmodus haben bisher eine Korrektur erfahren. Der einzige Fall wäre *Amoeba crystalligera* nach SCHAUDINN und es ist fraglich, ob diesem nicht auch das Schicksal der übrigen Amitosen beschieden ist. (Es wurde wahrscheinlich die Beteiligung des Außenkernes übersehen).

Die in der Literatur häufig anzutreffenden Angaben über das Vorkommen eines „abgekürzten“ Teilungsmodus bei verschiedenen Protozoen sind entweder auf Degenerationsformen oder (ich führe als Beispiel meine eigenen Angaben für *Chilomonas paramaecium* an) auf falsche Interpretierung einer nachträglichen Kernverschmelzung bei rückgängig gemachter, nicht vollständig durchgeführter Zellteilung zurückzuführen.

Und auch bei Metazoen ist mir kein exakt nachgewiesener Ausnahmefall von der hier ausgesprochenen Regel bekannt. Die Amitose ist der Mitose nicht gleichzusetzen. Sie ist ein pathologisch determinierter Prozeß.

*Chlamydrophrys schaudinni* läßt uns auch, wie schon oben erwähnt, über die Umstände, die die Amitose resp. die Annäherung der Mitose



an diese, bedingen, einiges erkennen. Je mehr die lokomotorische Kernkomponente in ihrer formgebenden Wirksamkeit gegenüber den Oberflächenkräften der flüssigen Kernbestandteile zurücktritt, desto mehr wird die Teilung zur Amitose. (In dem Terminus Amitose verstand FLEMMING unter *μντος* = Faden die Chromosomen; unsere Erfahrungen bei Protistenmitosen lassen es jedoch vielleicht gerechtfertigt erscheinen, wenn wir eine kleine Verschiebung vornehmen und unter den für die Entscheidung, ob eine Kernteilung mitotisch oder amitotisch verläuft, bestimmenden „Fäden“ den lokomotorischen Strukturenkomplex verstehen). Somit wäre auch in diesem Sinne die DOFLEIN'sche Formulierung <sup>1)</sup> des Verhältnisses der beiden Kernteilungsmodi zu modifizieren.

### Literaturverzeichnis.

- 1) ARCHER, W.: On some freshwater Rhizopods. Quart. Journ. of micr. Sc. New Series Vol. 9—12.
- 2) AWERINZEW, S.: Die Süßwasserrhizopoden. Lief. 1. Allgemeiner Teil. Trav. Soc. Natural. St. Pétersb. T. 36.
- 3) BREUER, R.: Fortpflanzung und biologische Erscheinungen einer Chlamydo-phrysform auf Agarkulturen. Arch. f. Protistenk. Bd. 37.
- 4) BÜTSCHLI, O.: Bemerkungen über Plasmaströmungen bei der Zellteilung. Arch. f. Entwicklungsgesch. Bd. 10.
- 5) CIENKOWSKI, L.: Über einige Rhizopoden und verwandte Organismen. Arch. f. mikr. Anat. Bd. 12.
- 6) DOFLEIN, F.: Studien zur Naturgeschichte der Protozoen. VIII. Pyxidicula operculata. Zool. Jahrb. Bd. 39.
- 7) —: Über den Teilungsvorgang bei den Süßwasserthalamophoren. Sitz.-Ber. d. Ges. f. Morph. u. Phys. München 1907.
- 8) —: Die vegetative Fortpflanzung von *Amoeba proteus* PALL. Zool. Anz. Bd. 49.
- 9) ELPATIEWSKY, W.: Zur Fortpflanzung von *Arcella vulgaris*. Arch. f. Protistenk. Bd. 10.

<sup>1)</sup> „Je reicher ein Kern an dickflüssigen oder festen Substanzen und Nucleolar-substanz und je ärmer er an leichtflüssigen (Kernsaft und Kerngerüstsubstanz) ist, um so mehr nähert sich seine Teilungsform der Amitose“ (Lehrbuch, 1916). Abgesehen davon, daß eine Übersicht über die verschiedenen Kernteilungstypen der Protisten die Unzulänglichkeit einer derart einfach-mechanischen Darstellung zeigt, ist die Sachlage beinahe umgekehrt: sind es ja doch gerade die „dickflüssigen“ Gele, welche die oben besprochene, formgebende Wirkung der lokomotorischen Komponente ausmachen und zum Teil gerade im Kerngerüst des ruhenden Kernes lokalisiert sind. Neuerdings scheint auch DOFLEIN seinen Standpunkt aufgegeben zu haben, wie sich aus den Ausführungen seines Schülers PRATJE ergibt.

- 10) GOETTE, A.: Über den Lebenszyklus von *Diffugia lobostoma*. Arch. f. Protistenk. Bd. 37.
- 11) GRUBER, A.: Die Teilung der monothalamen Rhizopoden. Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. 34, 36, 61.
- 12) HARTMANN, M.: Rhizopoda. Handwörterb. d. Naturw. G. Fischer, Jena.
- 13) — u. SCHILLING, C.: Die pathogenen Protozoen usw. J. Springer, Berlin 1917.
- 14) HEGNER, R. W.: The relations between nuclear number, chromatin mass, cytoplasmic mass and shell characteristics in four species of the genus *Arcella*. Journ. exper. Zool. 1920 Vol. 30.
- 15) HERTWIG, R.: Über Wesen und Bedeutung der Befruchtung. Sitz.-Ber. math.-phys. Kl. Bayr. Akad. Wiss. München 1902.
- 16) — u. LESSER, E.: Über Rhizopoden und denselben nahestehende Organismen. Arch. f. mikr. Anat. 10. Suppl.
- 17) KHAINSKY, A.: Untersuchungen über Arcellen. Arch. f. Protistenk. Bd. 21.
- 18) KÜHN, A.: Über die Beziehungen zwischen Plasmateilung und Kernteilung bei Amöben. Zool. Anz. Bd. 48.
- 19) —: Untersuchungen zur kausalen Analyse der Zellteilung. I. Teil: Zur Morphologie und Physiologie der Kernteilung von *Vahlkampfia bistadialis*. Arch. f. Entwicklungsmech. Bd. 46.
- 20) LEIDY, J.: Freshwater Rhizopods of North America. Unit. States geolog. survey of the territories. Washington 1879 Vol. 12.
- 21) PENARD, E.: Faune rhizopodique du bassin du Léman. Genève 1902.
- 22) POPOFF, M.: Über die geschlechtliche Fortpflanzung von *Euglypha alveolata* Duj. Arch. f. Protistenk. Bd. 25.
- 23) PRANDTL, H.: Der Entwicklungskreis von *Allogromia*. Arch. f. Protistenk. Bd. 9.
- 24) PRATJE, A.: Die Chemie des Zellkernes. Biol. Centralbl. Bd. 40.
- 25) REUKAUF, E.: Zur Encystierung von *Euglypha alveolata*. Zool. Anz. Bd. 39.
- 26) RHUMBLER, L.: Beiträge zur Kenntnis der Rhizopoden. Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. 57, 61.
- 27) —: Zelleib-, Schalen- und Kernverschmelzung bei den Rhizopoden. Biol. Centralbl. Bd. 18.
- 28) —: Versuch einer mechanischen Erklärung der indirekten Zell- und Kernteilung. Arch. f. Entwicklungsmech. Bd. 3.
- 29) —: Die Foraminiferen (Thalamophoren) der Plankton-Expedition. I. Teil. Kiel und Leipzig 1911.
- 30) SCHAUDINN, F.: Gesammelte Arbeiten. L. Voß, Hamburg 1911.
- 31) SCHREWIAKOFF, W.: Über die caryokinetische Kernteilung bei *Euglypha alveolata*. Morph. Jahrb. Bd. 13.
- 32) SCHÜSSLER, H.: *Chlamydrophrys schaudinni* n. sp. Arch. f. Protistenk. Bd. 22.
- 33) SPEK, J.: Oberflächenspannungsdifferenzen als eine Ursache der Zellteilung. Arch. f. Entwicklungsmech. Bd. 44.
- 34) —: Experimentelle Beiträge zur Kolloidchemie der Zellteilung. Kolloidchem. Beihefte Bd. 12 1920.
- 35) STECHE, O.: Grundriß der Zoologie. Leipzig 1919.
- 36) SWARCZEWSKY, B.: Über die Fortpflanzungserscheinungen bei *Arcella vulgaris*. Arch. f. Protistenk. Bd. 12.
- 37) —: Zur Kenntnis der *Allogromia ovoidea* RHUMBLER. Arch. f. Protistenk. Bd. 14.
- 38) ZUMLZER, M.: Beiträge zur Kenntnis von *Diffugia urceolata*. Arch. f. Protistenk. Bd. 4.

### Tafelerklärung.

Die Zeichnungen sind mit dem **ABBE'schen** Zeichenapparat entweder in **Arbeits-** oder **Objekttischhöhe** entworfen. Die den **Vergrößerungen** entsprechenden **Kombinationen** sind folgende:

| Obj.                   | Oc. | Arbeitstischhöhe | Objekttischhöhe |
|------------------------|-----|------------------|-----------------|
| ZEISS DD (4—5 mm)      | 4   | 550 fach         | 300 fach        |
| "                      | 8   | 1100 "           | 600 "           |
| "                      | 12  | 1700 "           | 880 "           |
| Immersion Apochr. 2 mm | 4   | 1150 "           | 650 "           |
| "                      | 8   | 2300 "           | 1350 "          |
| "                      | 12  | 3200 "           | 1950 "          |

Abkürzungen: S. A. = Sublimatalkohol.

P. E. = Pikrinessigsäure.

F. = FLEMING's Gemisch stark.

H. = Hämalan nach MAYER.

D. = DELAFIELD's Hämatoxylin.

E. H. = Eisenhämatoxylin nach HEIDENHAIN.

S. L. = Safranin Lichtgrün.

M. F. O. = Methylgrün-Fuchsin-Orange G<sub>2</sub> (BIONDI's Gemisch).

Die Fig. 34, 35, 54, 55, 78, 79 und 130 sind nach Originalzeichnungen von HERMANN SCHÜSSLER.

#### Tafel 3.

*Chlamydomorphys minor* nach dem Leben (ausgenommen Fig. 7 u. 8).

Fig. 1. Habitusbild. 2300 X.

Fig. 2. Rosettenkolonie mit 2 plasmogamischen und 2 atrophierten Individuen.

Fig. 3a—j. 10 aufeinanderfolgende Stadien der Zellteilung eines Individuums.

Hier wie auch fernerhin bei allen Teilungsserien sind die Zeiten über jeder Figur ersichtlich. Hängender Tropfen. 1150 X.

Fig. 4a—k. Kernteilung. 2300 X.

Fig. 5. 3 Cysten. 2300 X.

Fig. 6a—i. 9 aufeinanderfolgende Stadien der Encystierung im hängenden Tropfen. 1150 X.

Fig. 7. Cyste, gefärbt. S. A. M. F. O.

Fig. 8. Cyste, gefärbt. S. A. H.

Fig. 9a—f. 6 aufeinanderfolgende Stadien des Auskriechens aus der Cyste, auf der Agarplatte beobachtet. 1700 X.

#### Tafel 4.

*Chlamydomorphys schaudinni* nach Präparaten von HERMANN SCHÜSSLER. Wo nicht anders vermerkt, ist die Fixierung und Färbung: S. A. E. H., die Vergrößerung: 1950 X.

Fig. 10—31. Kernteilung.

Fig. 13. Alaunkarminfärbung.

Fig. 21. Äquatorialplatte vom Spindelpol gesehen.

- Fig. 32. Habitusbild.  
 Fig. 33. Ein Individuum, welches ein zweites gefressen hat. 650 $\times$ .  
 Fig. 34. Cyste (normal?). 1350 $\times$ . Zeichnung von H. SCHÜSSLER.  
 Fig. 35. Teilungsbild eines normalen Individuums. Zeichnung von H. SCHÜSSLER.  
 Fig. 36—41, 44—47. Stadien der atypischen Kernteilung.  
 Fig. 42, 43. Zellteilungsbilder bei atypischer Teilung. 650 $\times$ .  
 Fig. 48, 49. Übergangsformen zwischen typischer und atypischer Kernteilung.  
 Fig. 50—53. Atypische Teilungsbilder im Degenerationsstadium.  
 Fig. 54, 55. Degenerierende Individuen aus einer Kultur, in der nur atypische Kernteilung stattfindet. 1350 $\times$ . Zeichnungen von H. SCHÜSSLER.

## Tafel 5.

Vergrößerung, wo nicht anders bemerkt, 2300fach.

- Fig. 56—65. *Chlamydrophrys minor*.  
 Fig. 56. Habitusbild. S. A. E. H. Excretkristalle!  
 Fig. 57. Habitusbild. S. A. M. F. O. Phäosomen!  
 Fig. 58—65. Teilung.  
 Fig. 58. S. A. H.  
 Fig. 59, 60. F. E. H.  
 Fig. 61. S. A. M. F. O.  
 Fig. 62, 63. S. A. S. L.  
 Fig. 64, 65. S. A. H.  
 Fig. 66—73. *Chlamydrophrys parva* nach Präparaten von H. SCHÜSSLER.  
 S. A. E. H.  
 Fig. 66. Habitusbild.  
 Fig. 67—73. Kern- und Zellteilung.  
 Fig. 74—77. *Chlamydrophrys major* nach Präparaten von H. SCHÜSSLER.  
 Fig. 74, 75. Habitusbild. S. A. E. H. (Excretkristalle bei Fig. 75!)  
 Fig. 76. Zellteilung. S. A. D.  
 Fig. 77 a—g. 17 aufeinanderfolgende Stadien der Kernteilung. S. A. D.  
 Fig. 78, 79. *Chlamydrophrys parva*, zwei- und einkernige Cyste. S. A. E. H.  
 1950 $\times$ . Zeichnungen von H. SCHÜSSLER.

## Tafel 6.

*Rhogostoma schüssleri*.

- Fig. 80—88. Nach dem Leben. 1700 $\times$ .  
 Fig. 80, 81. Habitus von der Breitseite,  
 Fig. 82. Habitus von der Schmalseite,  
 Fig. 83. Habitus von der Kernseite gesehen.  
 Fig. 84. Übergangsstadium zur Dauerform, halb von der Seite.  
 Fig. 85. Dasselbe von der Schmalseite.  
 Fig. 86. Zwei vegetative Individuen mit gemeinsamen Pseudopodien.  
 Fig. 87, 88. Dauerformen.  
 Fig. 89, 90. Nach gefärbtem Präparat. E. H. 2300 $\times$ .  
 Fig. 89. Habitusbild.  
 Fig. 90, 91. Übergangsstadium zur Dauerform.  
 Fig. 92, 93. Dauerformen.

## Tafel 7.

*Rhogostoma schüssleri*. Teilung nach gefärbtem Präparat. 2300×.

Fig. 94—98. Prophase. Fig. 94, 97 F. E. H. Fig. 95, 96, 98 P. E. D.

Fig. 99—102. Übergang zur Metaphase.

Fig. 99, 100 P. E. D. Fig. 101, 102 S. A. S. L.

Fig. 103—105. Metaphase. Fig. 103 S. A. S. L. (Pseudocentrosom). Fig. 104, 105 S. A. H.

Fig. 106—111. Anaphase. Fig. 106 S. A. M. F. O. Fig. 107—110 P. E. D. Fig. 111 P. E. E. H.

Fig. 112—117. Telophase. Fig. 112, 115 F. E. H. Fig. 113, 114 S. A. S. L. Fig. 116, 117 S. A. E. H.

## Tafel 8.

*Pamphagus hyalinus*, nach dem Leben.

Fig. 118. Kleines Individuum, Habitusbild 1150×.

Fig. 119. Kleine Kolonie in der Kulturschale. 100× (Mikrophotogr.).

Fig. 120a—y. Kernteilung, hängender Tropfen. 1150×. a—e Prophase, f—i Metaphase, j—m Anaphase, n—x Telophase.

## Tafel 9.

Plasmogamie.

Fig. 121—123. *Chlamydothryx minor*.

Fig. 121a—k. 11 aufeinanderfolgende Stadien der Plasmogamie nach dem Leben. 1150×.

Fig. 122. Plasmogamie fixiert. P. E. H.

Fig. 123. Teilung eines plasmogamischen Tieres. S. A. S. L. 2300×.

Fig. 124—136. *Chlamydothryx schaudinni* nach fixiertem Präparat.

Fig. 124—127. 650×.

Fig. 124. Plasmogamie von 4 Individuen. Tier b zweikernig, der dritte Kern in Pyknose, Tier c in Telophase, d in Anaphase. S. A. E. H.

Fig. 125. Plasmogamie zwischen einem mono- und einem bienergiden Individuum (Entstehung eines Individuums mit zwei Schalenöffnungen).

Fig. 126. Spontane Zellteilung.

Fig. 127. Desgl. nach Kernverschmelzung (Entstehung eines kernlosen Tochtertieres).

Fig. 128—136. 1950x.

Fig. 128—139. Teilung von plasmogamen Kernen. S. A. E. H.

Fig. 128. Prophase. Fig. 129—132. Metaphase (Fig. 130 Zeichnung von H. SCHÜSSLER). Fig. 133. Telophase (patholog).

Fig. 134. Tochterkernpaar.

Fig. 135. Zwei dicht vor der Verschmelzung stehende Tochterkernpaare.

Fig. 136. Beginnende Pyknose des einen Kernes.

## Tafel 10.

*Chlamydothryx minor*. Zwei Kulturen gleichzeitig angelegt, am 4. Tage nach der Anlage photographiert. 100×.

Fig. 137. Knop-Agar, alkalisch 0,5proz.

Fig. 138           "           1proz.

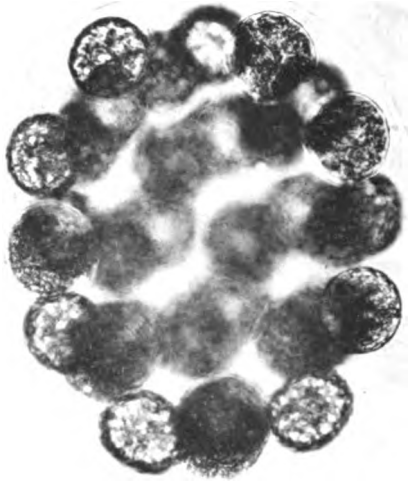




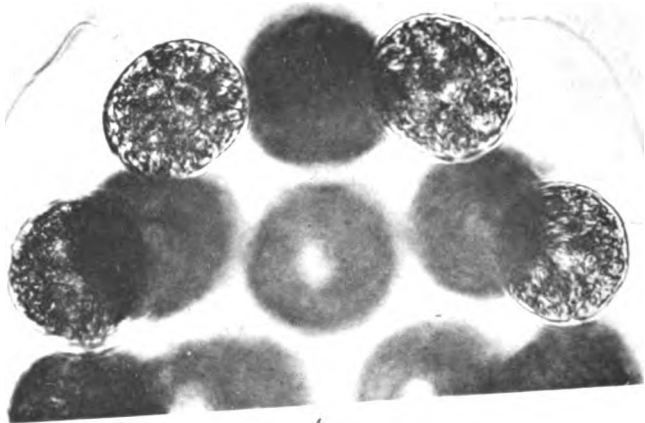
1



2

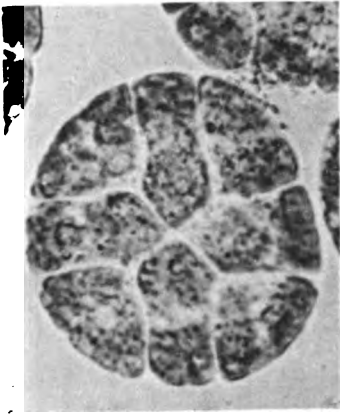


3

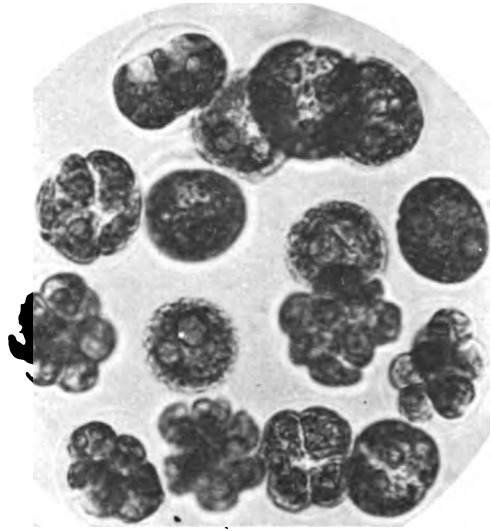


4

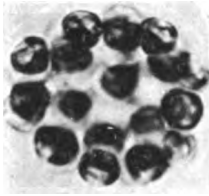
Hartmann u. Bélař phot.



5



7



6



8



9

J. B. Obernetter, München repr.

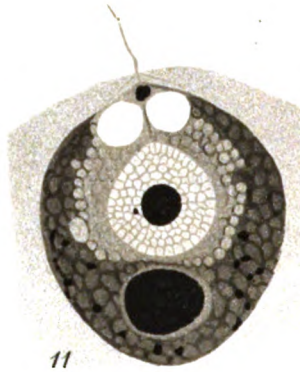








10



11



12 a



12



a



b



16



17



19



22



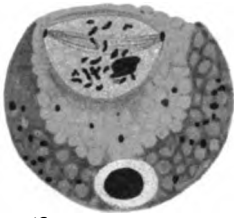
23



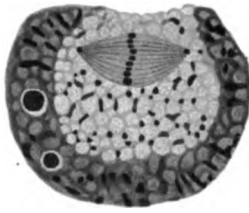
24



25



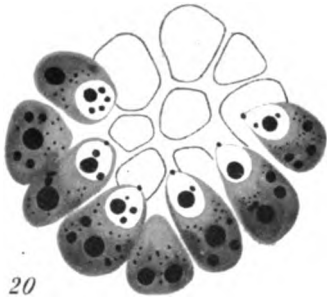
13



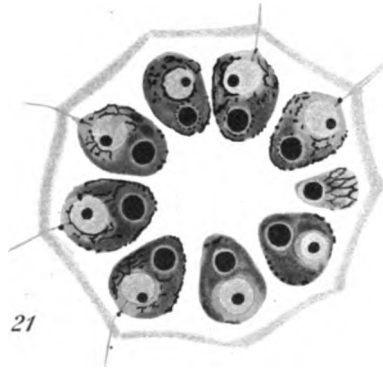
14



15



20



21



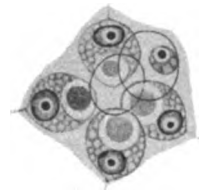
26



28



27



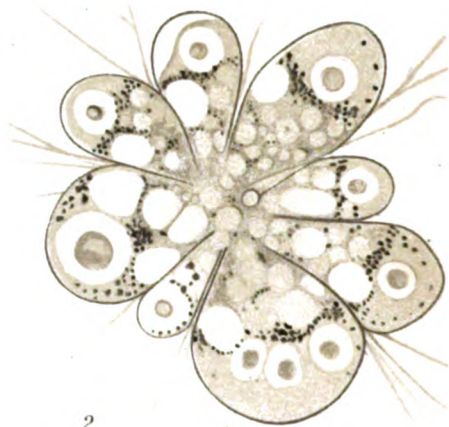
29



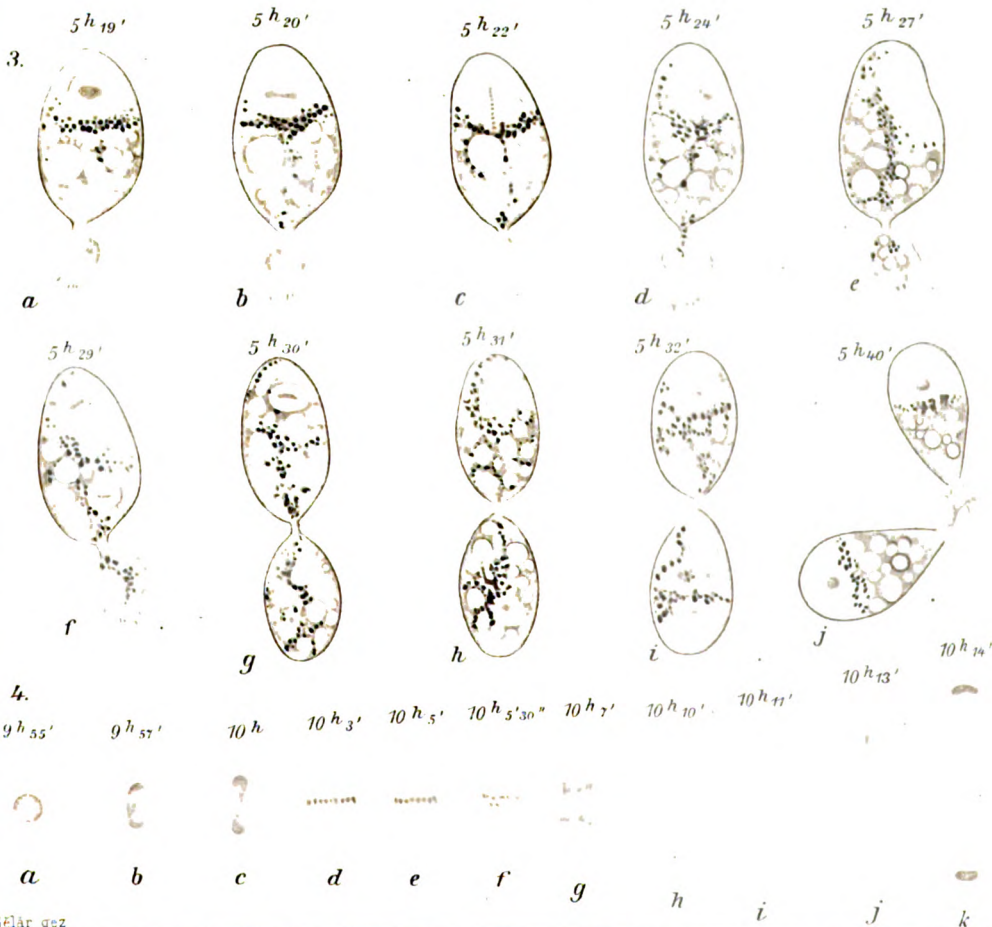




1



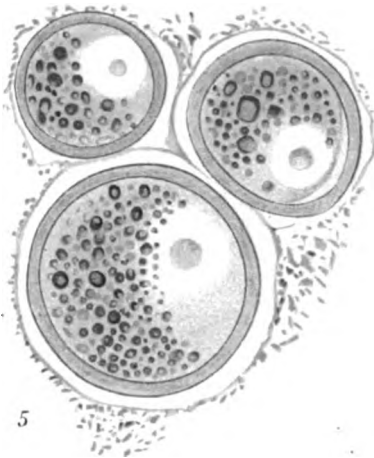
2



Bélár gez

Bélár.

Verlag von Gustav Fischer



6

26. III. 11<sup>h</sup> vm.

26. III. 3<sup>h</sup> nm.



a

b

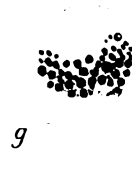
26. III. 6<sup>h</sup> nm.

26. III. 11<sup>h</sup> nm.

27. III. 12<sup>h</sup> vm.

27. III. 8<sup>h</sup> nm.

28. III. 9<sup>h</sup> vm.



c

d

e

f

g

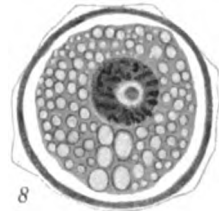
28. III. 3<sup>h</sup> nm.

28. III. 11<sup>h</sup> nm.



h

i



7

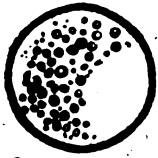
8

9 1<sup>h</sup> vm.

6<sup>h</sup> vm.

9<sup>h</sup> 30' vm.

9<sup>h</sup> 45'



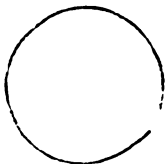
a

b

c

d

11<sup>h</sup> vm.



9<sup>h</sup> 45'



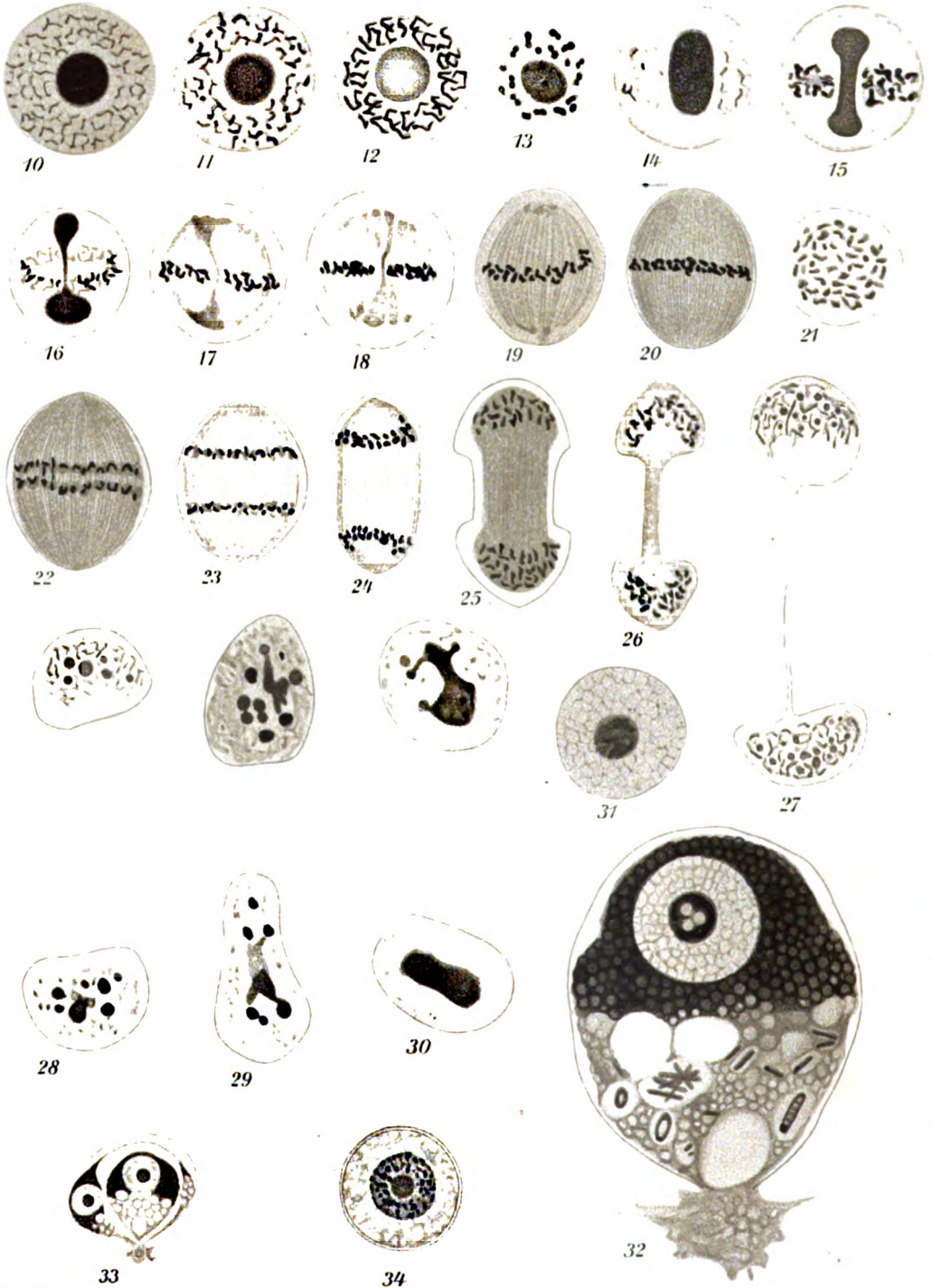
e

f





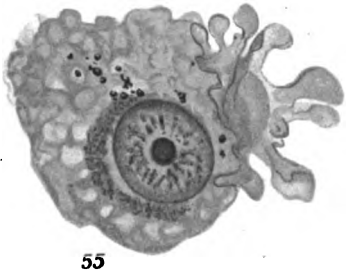
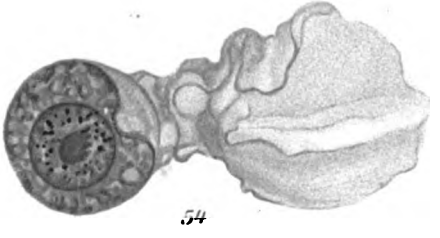
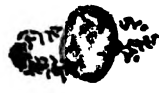




Schussler u. Bělár gez

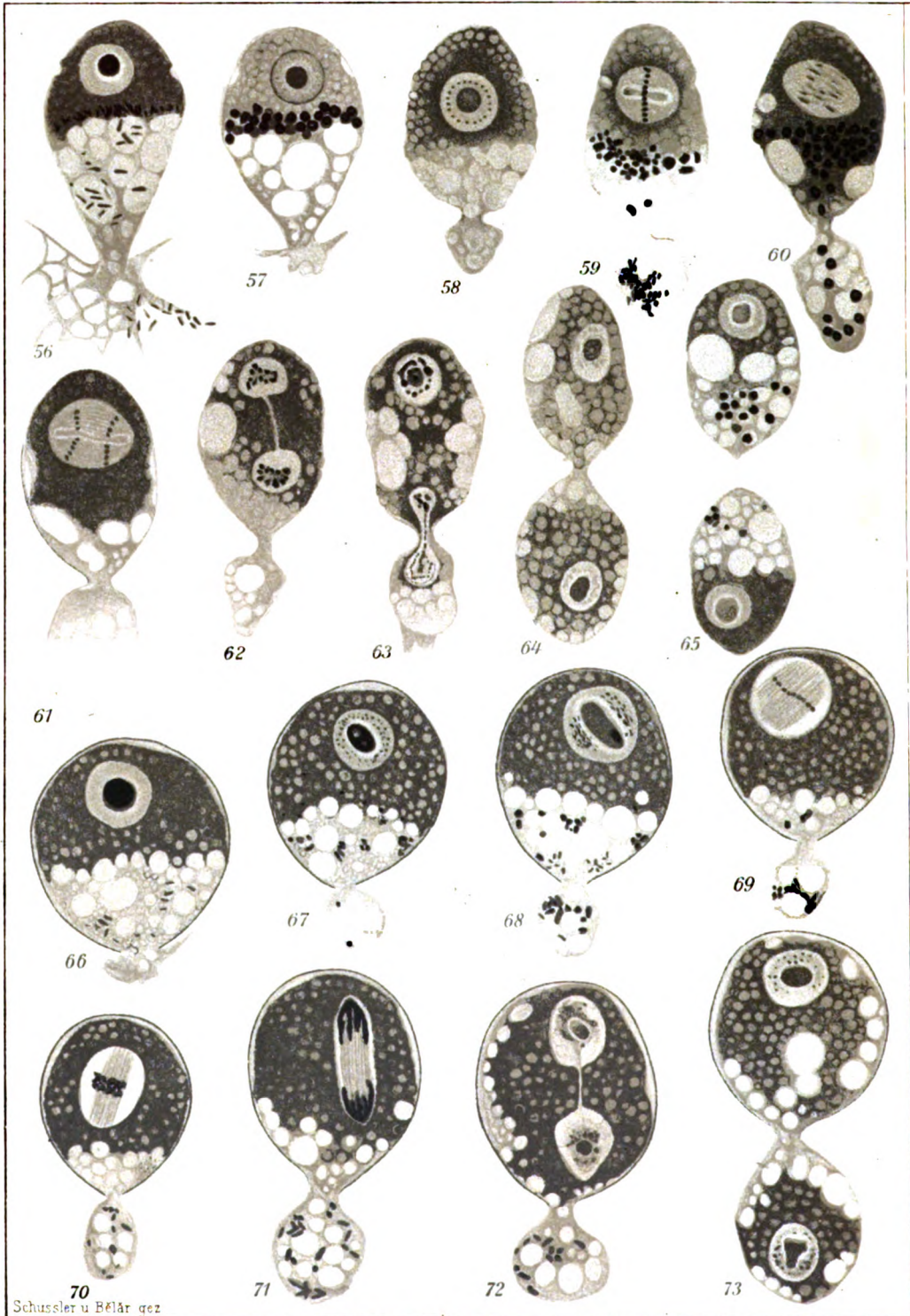
Bělár.

Verlag von Gustav Fischer in





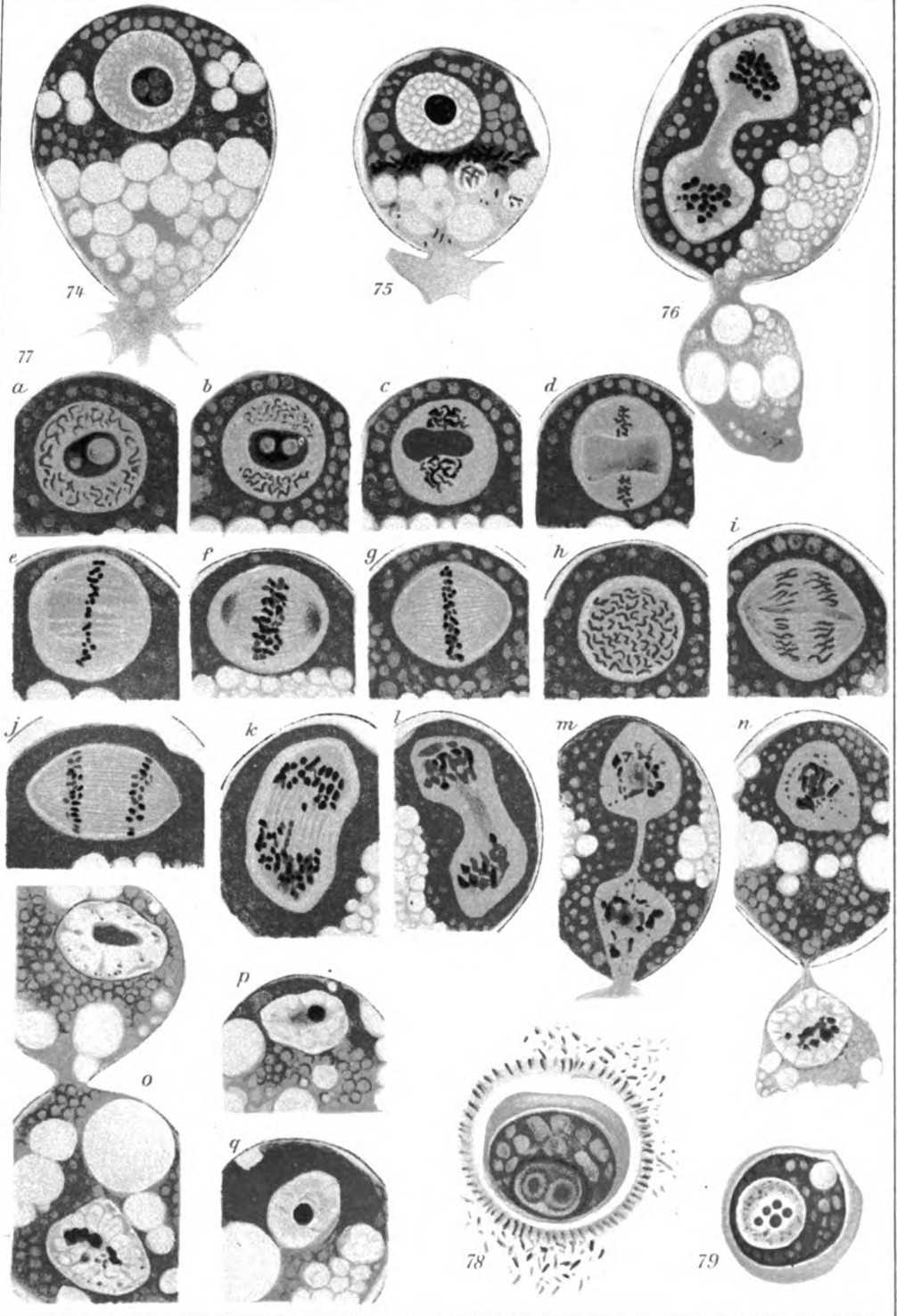




Schussler u. Belár gez

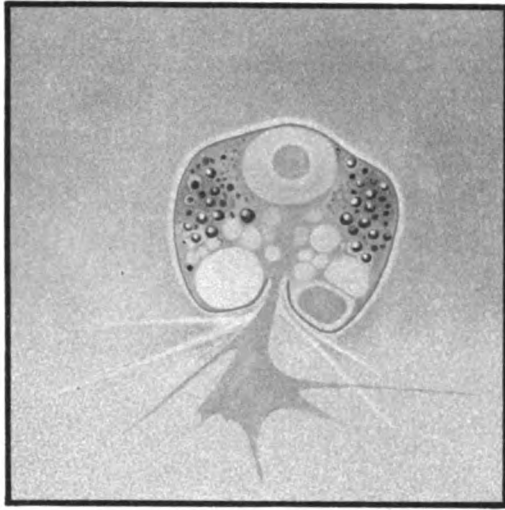
Belár.



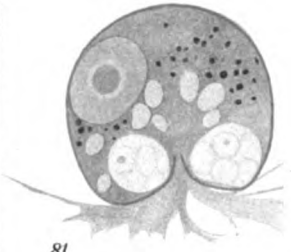




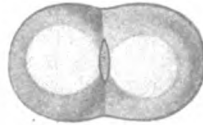




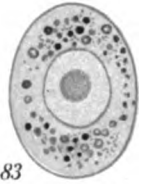
80



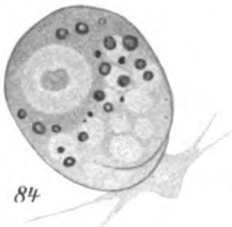
81



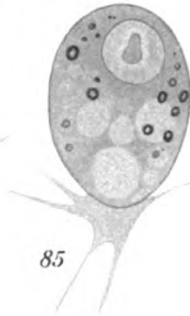
82



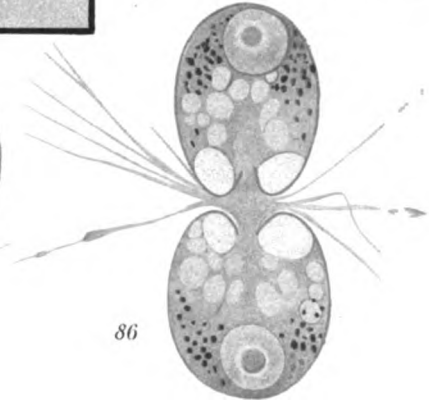
83



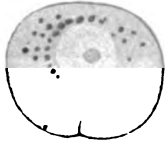
84



85



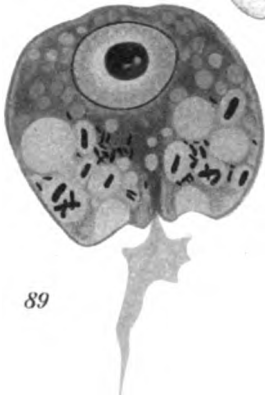
86



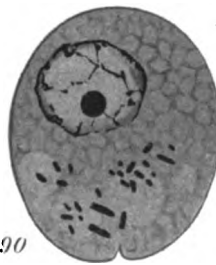
87



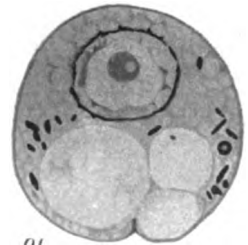
88



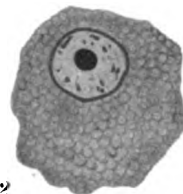
89



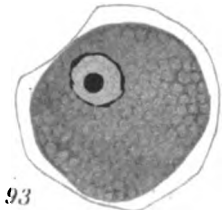
90



91



92



93

Bélár gez

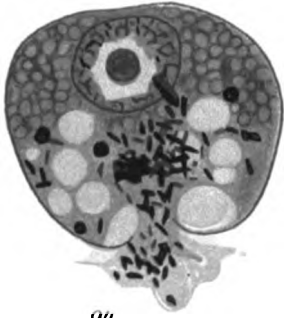
Bélár.

verlag von Gustav Fischer in Jena.

- Lith Anst. v. E. Göltsch, Jena.







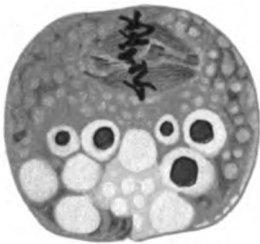
94



95



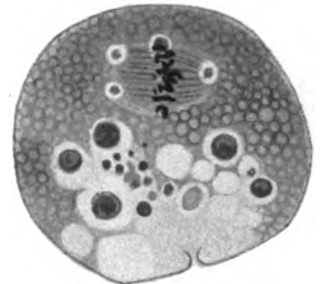
96



100



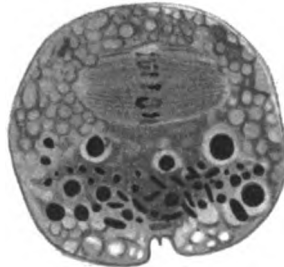
101



102



106



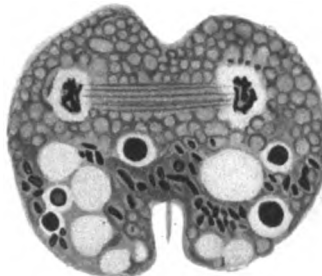
107



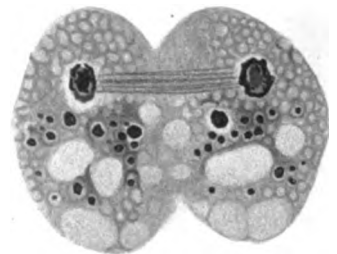
108



112



113



114

Etlár gez

Bélár.

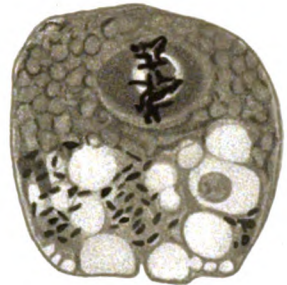
Verlag von Gustav Fischer



97



98



99



103



104



105



109



110



111



115



116

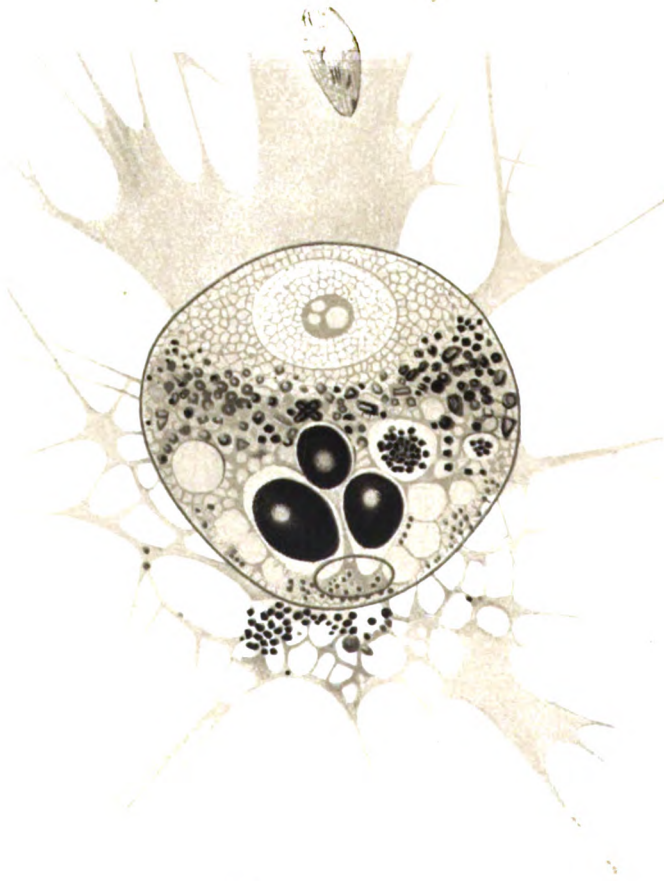


117









118

Bélár gez.  
Bélár.

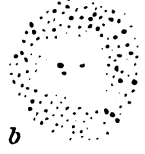
Verlag von Gustav Fischer

120 3h 22'



a

3h 24'



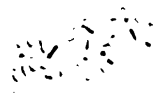
b

3h 25'



c

3h 26'



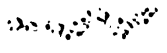
d

3h 27'



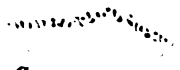
e

3h 29'



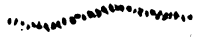
f

3h 31'



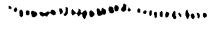
g

3h 34'



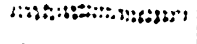
h

3h 37'



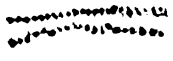
i

3h 39'



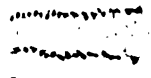
j

3h 39' 10"



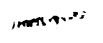
k

3h 39' 20"



l

3h 40'



m

3h 40' 30"



n

3h 41'



o

3h 44'



p

3h 47'



q

3h 48'



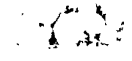
r

3h 50'



s

3h 55'



t

3h 58'



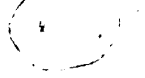
u

4h



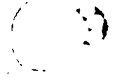
v

4h 14'



w

4h 22'



x

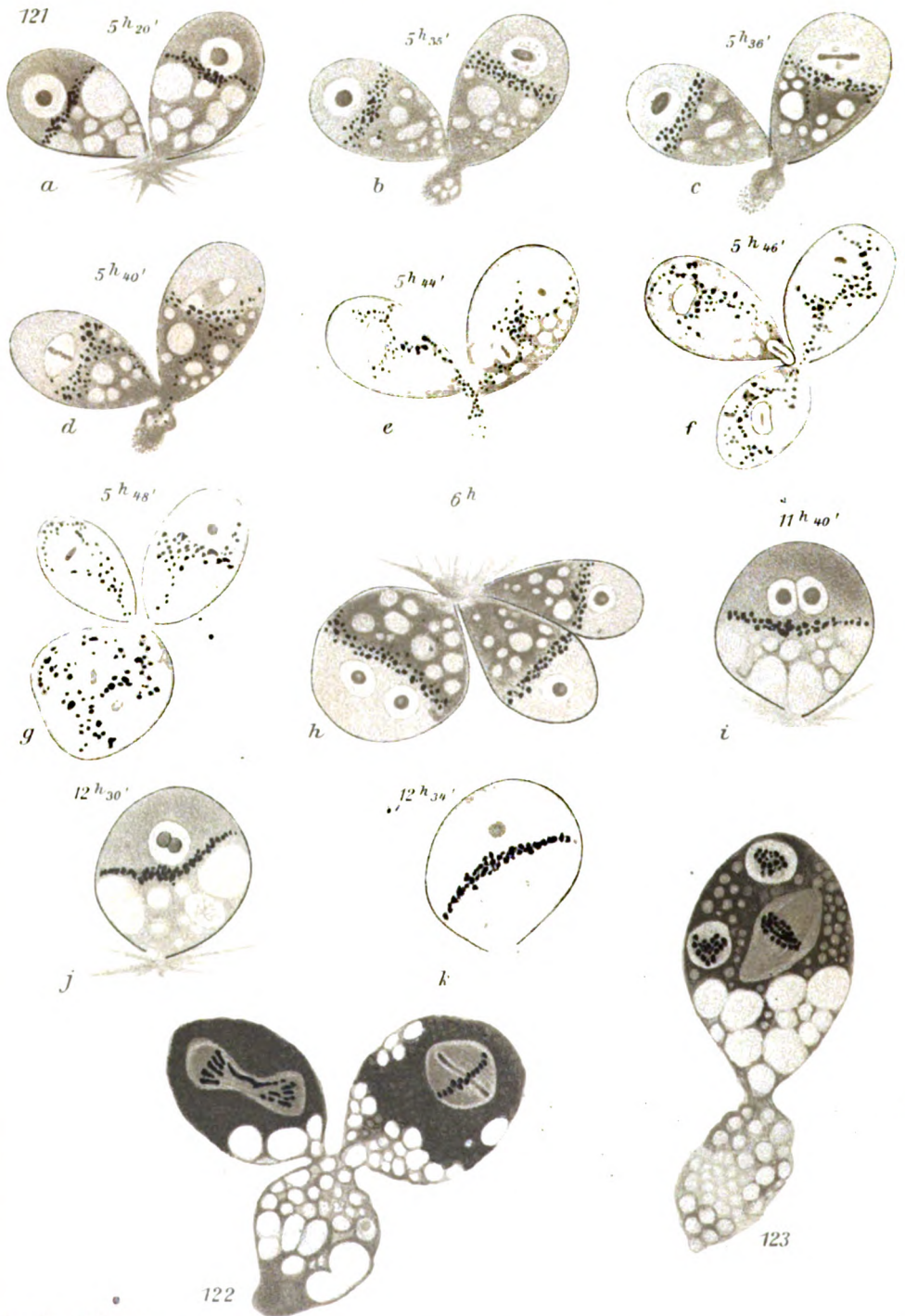
4h 40'

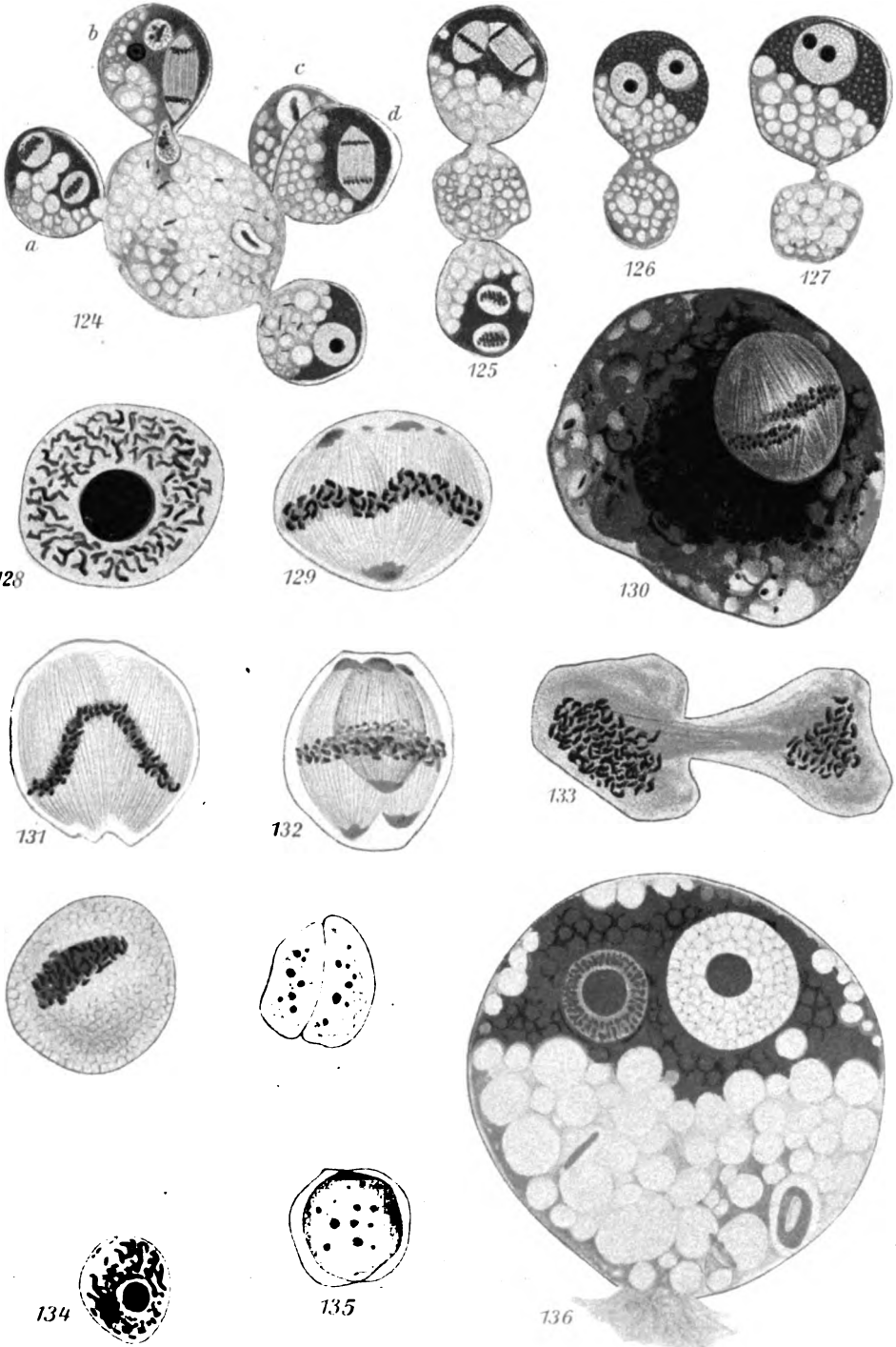


y

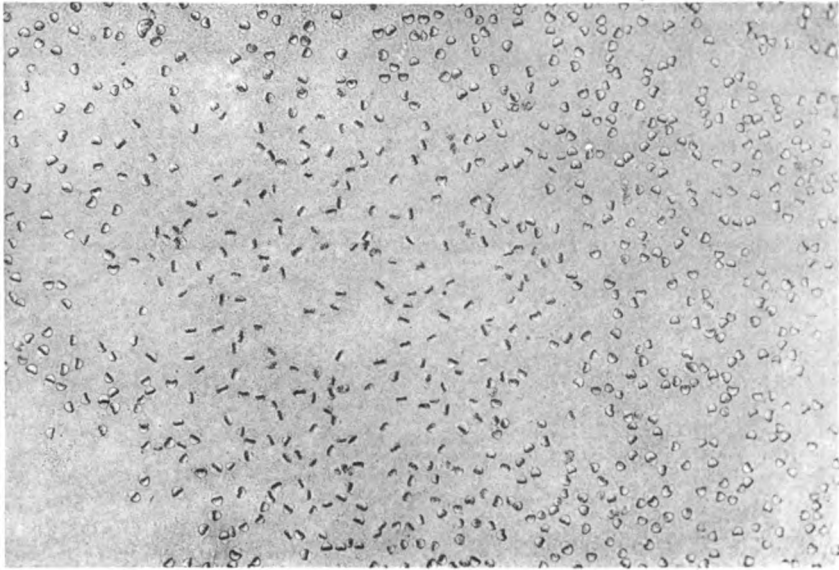




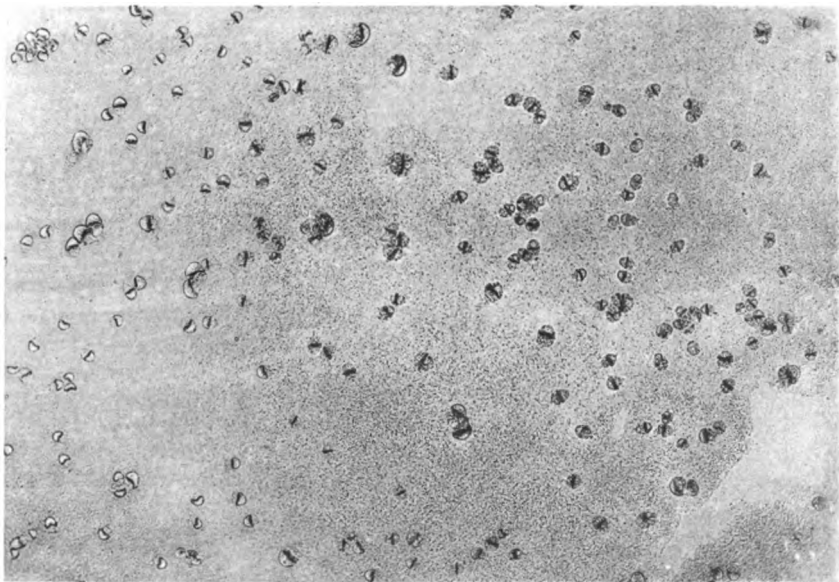








137



138





Nachdruck verboten.  
Übersetzungsrecht vorbehalten.

## Haplosporidienstudien.

### II. Über *Bertramia beauchampi* n. sp. aus *Conochilus volvox* EHREGG.

Von  
Prof. Dr. W. Stempel.

(Hierzu 18 Textfiguren.)

In Rotatorien schmarotzende Haplosporidien, die gewöhnlich in der Gattung *Bertramia* zusammengefaßt werden, sind bereits von zahlreichen Forschern beschrieben worden, am häufigsten die jetzt unter dem Speziesnamen *Bertramia asperospora* FRITSCH<sup>1)</sup> gehenden Formen. Ende Juni 1920 erhielt ich nun durch die Freundlichkeit des Herrn Geh. Rat Prof. Dr. G. W. MÜLLER aus Greifswald konserviertes Material von *Conochilus volvox*, das zum Teil sehr stark mit einem Haplosporid infiziert war. Es stellte sich bald heraus, daß die vorliegenden Parasiten zwar ebenfalls zu der — sehr weit gefaßten — Gruppe der Bertramien gehörten, daß sie aber von der typischen Art *asperospora* FRITSCH zweifellos recht verschieden waren. Die Durchsicht der Literatur ergab, daß CAULLERY und MESNIL (l. c. p. 136 Fußnote) einen Fund von BEAUCHAMP aus *Asplanchna priodonta* GOSSE erwähnen, der vielleicht mit dem vorliegenden zu identifizieren ist. Es handelt sich um eine nur sehr kurze Beschreibung und Abbildung einer Cyste (Fig. B) einer bisher wohl

<sup>1)</sup> Vgl. besonders: BERTRAM, Beiträge zur Kenntnis der Sarcosporidien, nebst einem Anhang über parasitische Schläuche in der Leibeshöhle von Rotatorien. Diss. Rostock 1892. — FRITSCH, in: Bull. internat. des Sciences de l'emp. Franç. Jos. I, Prag 1895. — PRZESMYSKI, in: Extr. z. Bull. de l'Acad. d. sc. de Cracovi, Krakau 1901. — COHN, in: Zool. Anz. 1902 Bd. 25 p. 497. — MESNIL et CAULLERY, in: Arch. zool. expér. IV. Serie T. 4 1905. (Hier auch weitere Literatur.)

unbenannten Form, deren in eine gemeinschaftliche Hülle eingeschlossene „Sporen“ (= Cysten) an ihrer Wand im optischen Durchschnitt 9 „petites aspérités obtuses“ aufweisen, wie sie in fast der gleichen Zahl (7) an den Cysten meines Materials zu sehen sind. Ich möchte, da auf den kleinen Zahlenunterschied wohl kein Gewicht zu legen ist, zunächst annehmen, daß die vorliegende Art mit der BEAUCHAMP'schen identisch ist, und sie daher *Bertramia*

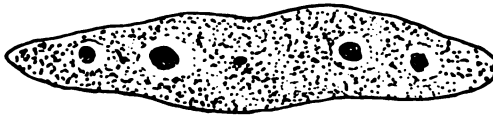


Fig. 1.

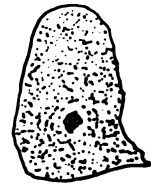


Fig. 2.

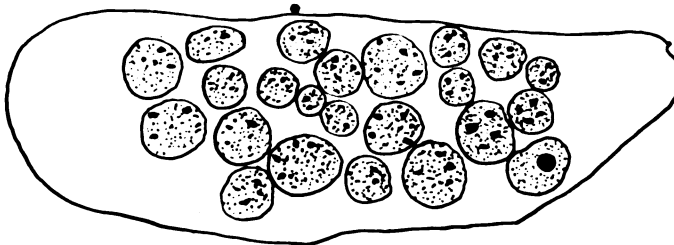


Fig. 4.



Fig. 5.

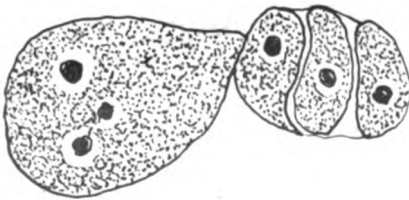


Fig. 3.

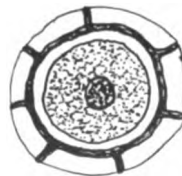


Fig. 6.

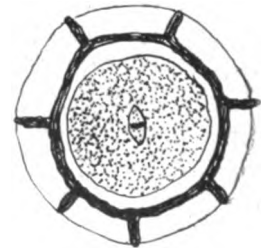


Fig. 7.

NB. Alle Figuren beziehen sich auf *Bertramia beauchampi* n. sp.  
Fig. 1—13 sind Zeichnungen (Zeichenapparat Apochr. 2 mm  $\times$ , Comp. Oc. 18).  
Fig. 14—18 Mikrophotogramme.

- Fig. 1. Vegetatives Stadium mit ungeteiltem Protoplasma. 2500:1.  
Fig. 2. Einkerniges, vegetatives Stadium. 2500:1.  
Fig. 3. Vegetatives Stadium mit beginnender Protoplasteileilung. 2500:1.  
Fig. 4. Vegetatives Stadium mit vollendeter Protoplasteileilung. 2500:1.  
Fig. 5. Zweikerniges Stadium. 2500:1.  
Fig. 6. Einkernige, relativ kleine Cyste. 2500:1.  
Fig. 7. Cyste mit Metaphase des Kernes. 2500:1.

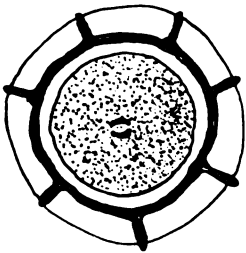


Fig. 8.

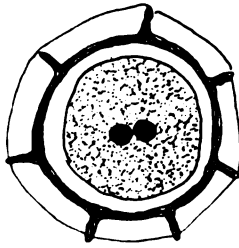


Fig. 9.

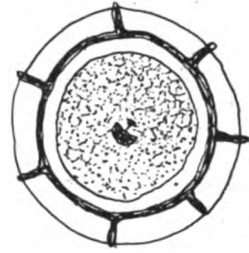


Fig. 10.

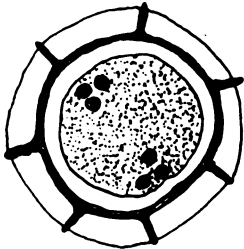


Fig. 11.

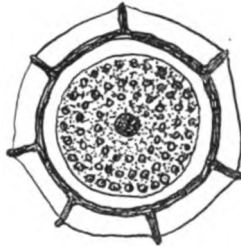


Fig. 12.

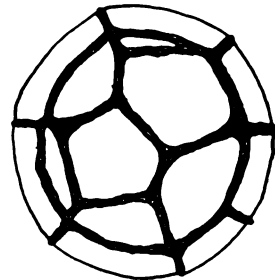


Fig. 13.

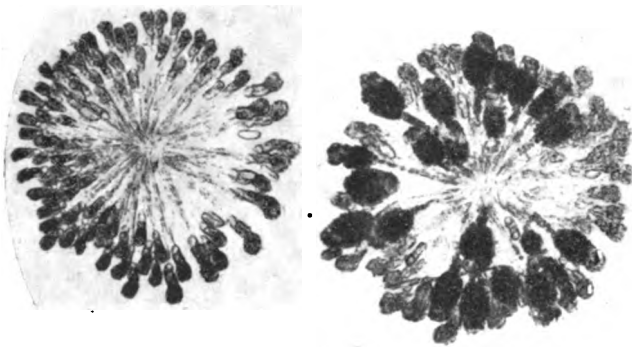


Fig. 14.

Fig. 8. Cyste mit Anaphase des Kernes. 2500:1.

Fig. 9. Cyste mit zwei Kernen. 2500:1.

Fig. 10. Cyste mit heteropolar Kernteilung. 2500:1.

Fig. 11. Sechskernige Cyste. 2500:1.

Fig. 12. Cyste mit großem zentralen Kern und vielen Sporenkernen. 2500:1.

Fig. 13. Cystenhülle. Oberflächenbild. 2500:1.

Fig. 14. Zwei Kolonien von *Conochilus volvox*, von denen die eine stark mit *Bertramia* infiziert ist. Alk. 96proz. Glycerin (ungef.) 35:1.

*beauchampi* n. sp. nennen. Neuerdings hat dann KONSULOFF<sup>1)</sup> aus *Euchlanis dilatata* eine *Bertramia euchlanis* beschrieben, die der vorliegenden in Gestalt und Entwicklung äußerst ähnlich und zweifellos nahe mit ihr verwandt ist; denn auch bei der KONSULOFF'schen Art zeigen die Cysten kleine Vorsprünge ihrer inneren Hülle. Immerhin handelt es sich sicher um eine andere Art, da bei *B. euchlanis* die

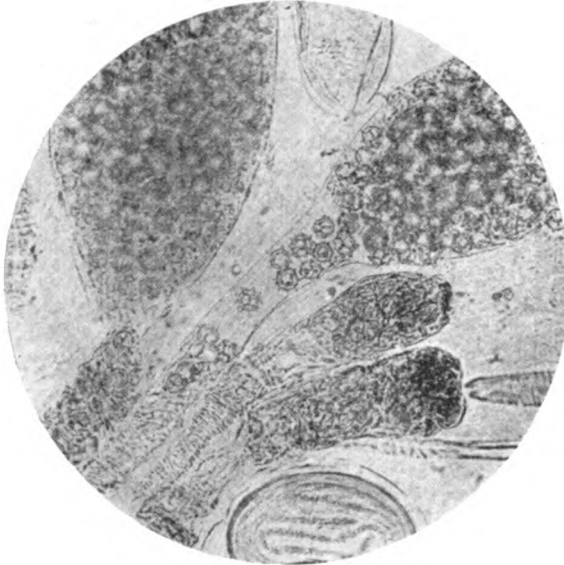


Fig. 15. Kleines Stück der infizierten Kolonie des Präparates Fig. 14. 270:1.

Cysten erheblich kleiner sind als bei meiner Art, und die Zahl jener Vorsprünge auch viel größer ist (16 am optischen Querschnitt). Im übrigen werde ich auf die Angaben KONSULOFF's noch zurückzukommen haben.

Die Parasiten sitzen im Schizocoel der *Conochilus*-Individuen, die schließlich ganz vollgepfropft von ihnen sind (Fig. 14, 15), aber dennoch flim-

mern, wenn auch träger als die parasitenfreien (nach Mitteilung von Herrn Geh. Rat Prof. Dr. MÜLLER). Gewöhnlich sind zahlreiche — doch im vorliegenden Material nie alle — Individuen einer Kolonie infiziert, und die Parasiten befinden sich dann in allen Wirtstieren auf annähernd gleichem Entwicklungs- und Wachstumsstadium (Fig. 15). Schon am ungefärbten Präparat fallen die großen Mengen der charakteristisch gestalteten Cysten auf, während die vegetativen Stadien wenigstens in dem mir vorliegenden Material wenig zahlreich waren und erst an gefärbten Dauerpräparaten aufgefunden werden konnten. Verwendet wurden Zupfpräparate, die mit Safranin-Lichtgrün, Hämatoxylin und Eisenhämatoxylin gefärbt waren. Die vegetativen Formen sind wie bei allen *Bertramien* schlauchförmig. Selten habe ich mehrkernige Schläuche gefunden,

<sup>1)</sup> Arch. f. Protistenk. Bd. 33 Heft 1 1914.

deren Protoplasma noch ungeteilt war (Fig. 1); meist handelte es sich um Zellenhaufen, die von einer gemeinsamen Hülle umschlossen waren und deren Elemente mehrkernig oder einkernig waren (Fig. 3, 4). Die Mehrkernigkeit ist wohl der Ausdruck einer noch lebhaften Ver-



Fig. 16. Kleines Stück von Fig. 15 bei stärkerer Vergrößerung. 1000:1.

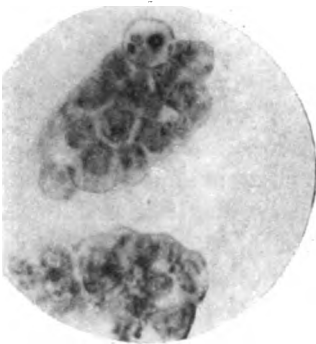


Fig. 17.

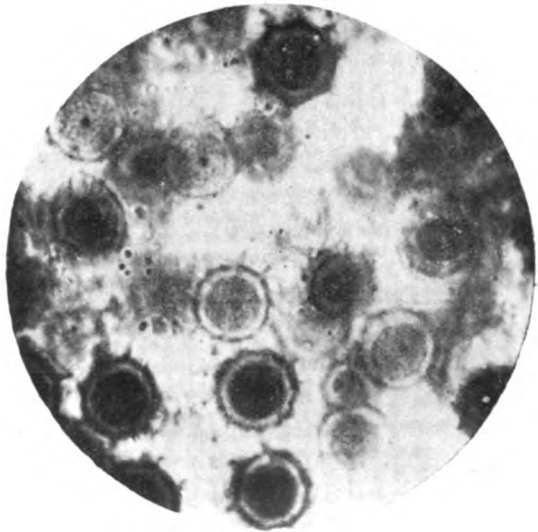


Fig. 18.

Fig. 17. Vegetative Stadien. Alk. 96 proz. Zupfpräparat. Eisenhämatoxylin. Kanadabalsam. Apochr. Ölimmers. 1,5 mm, Comp. Oc. 6. 1000:1.

Fig. 18. Cysten. Präparat wie Fig. 17. 1000:1.

mehrung, und es handelt sich bei diesen Formen wohl um jüngere Schläuche, während die einkernigen, auch gewöhnlich größeren Elemente vermutlich älteren Schläuchen angehören und als werdende, noch hüllenlose Cystenzellen aufzufassen sind (Fig. 3 rechts). Ein

derartiges Stadium, das aus dem Schlauch herausgefallen ist, stellt vielleicht auch Fig. 2 dar. Zuweilen habe ich einzelne, zweikernige Cystenzellen gefunden (Fig. 5); ob aber daraus auf sexuelle Vorgänge zu schließen ist, konnte nicht einwandfrei festgestellt werden. Die reifen Cystenzellen sind einschließlich ihrer Hüllen 10—15  $\mu$  groß, kugelig, selten eiförmig und ebenso wie die der nahe verwandten *B. euchlanis* von zwei Hüllen umgeben. Die innere Hülle, deren Aufbau aus „Plättchen“ KONSULOFF (l. c.) wohl irrtümlich gedeutet hat, färbt sich stärker mit Hämatoxylin als die äußere; sie zeigt auf ihrer Oberfläche ein grobes Netzwerk stark vorspringender Leisten, die sich durch die zartere äußere Hülle hindurch erstrecken und auf einem optischen Durchschnitt etwa in der 7-Zahl zu sehen sind (Fig. 6—13, 14—16, 18). Die äußere Hülle hat eine glatte Oberfläche, ist schwach lichtbrechend und hält das Eisenhämatoxylin nur bei schwacher Differenzierung fest (Fig. 18 teilweise); sie ist daher gewöhnlich schwer zu sehen. Der protoplasmatische Inhalt füllt den Cysteninnenraum gewöhnlich nicht vollkommen aus und zeigt eine deutliche Wabenstruktur (Fig. 6—12, 18). Der Kern ist in jüngeren Cysten nur in der Einzahl vorhanden und liegt als relativ großes, kugeliges, wie es scheint caryosomloses Gebilde zentral (Fig. 6). Er teilt sich später mittels einer Mitose, deren Einzelheiten bei der Kleinheit der Objekte aber nicht zu erkennen waren (Fig. 7, 8), in zwei gleichgroße oder auch verschieden große Deszendenten (Fig. 10). Durch weitere Kernteilung nimmt dann die Zahl der Kerne allmählich zu (Fig. 9, 11). Schließlich wird — in ähnlicher Weise wie bei *B. euchlanis* — eine größere Zahl sehr kleiner Kerne, wohl der Sporenkerne, gebildet, während der zentrale, wenig verkleinerte Hauptkern noch lange erhalten bleibt (Fig. 12).

Das wäre in großen Zügen das, was an vorliegendem Material von der Entwicklungsgeschichte festgestellt werden konnte. Es ergänzt in mancher Hinsicht die Angaben von KONSULOFF über *B. euchlanis*. Wie man sieht, zeigen diese beiden Arten, die man wohl als die am besten bisher bekannten Bertramien ansehen kann, eine recht nahe Verwandtschaft zu den von mir<sup>1)</sup> bereits beschriebenen Haplosporidien bzw. genauer Cölosporidien der Gattungen *Polycaryum*, *Blanchardina*, *Serumsporidium* und *Trachysporidium*<sup>1)</sup>.

<sup>1)</sup> Zool. Jahrb., Abt. Syst. Geogr., Bd. 15 H. 6 1902; Arch. f. Protistenk. Bd. 2 1903; Arch. f. Protistenk. Bd. 42 1921; Mitteil. a. d. zool. Inst. Univ. Münster H. 3 (im Druck).

Nachdruck verboten.  
Übersetzungsrecht vorbehalten.

(Aus dem zoologischen Institut der Universität Marburg.)

## Beitrag zur Kenntnis der Morphologie und Physiologie der Mehlwurmgregarinen.

Von  
Dorothea Mühl.

(Hierzu Tafel 11 u. 12 und 14 Textfiguren.)

### A. Die Bewegungserscheinungen.

#### Einleitung.

Die Bewegungserscheinungen, die wir bei den Gregarinen antreffen, äußern sich, soweit uns bekannt ist, in dreierlei Weise.

Erstens finden wir die sog. peristaltische Bewegung. Am schönsten können wir sie bei *Monocystis agilis* beobachten. Sie entspricht der Bewegung, wie sie uns bei verschiedenen Flagellaten, z. B. bei *Astasia*-Arten, namentlich bei Verlust der Geißeln entgegentritt. Ich selbst konnte während meiner Untersuchungen an *Astasia mobilis* REHBERG die überraschende Ähnlichkeit der Bewegung dieses Tieres mit derjenigen von *Monocystis agilis* beobachten. Anfänglich wurde dieses Tier geradezu für eine *Monocystis* gehalten. Erst MRAZEK (1892) gelang es, das Vorhandensein einer Geißel und somit die Flagellatennatur dieses interessanten Parasiten festzustellen.

Die zweite Art der Bewegung besteht in energischen Knickungen und Streckungen des Körpers. Über die Ursache dieser Erscheinung sind die Meinungen der verschiedenen Forscher ziemlich gleich. Sie wird in Kontraktionen feiner meist ringförmig, seltener längsverlaufender Muskelfibrillen, Myoneme, gesucht.



Die dritte Bewegungsweise ist sehr eigenartig, und es ist bis jetzt noch nicht gelungen, sie ausreichend zu erklären.

AIMÉ SCHNEIDER beschreibt 1875 diese Erscheinung folgendermaßen: „Die Gregarine bewegt sich in der Richtung ihrer Längsachse vorwärts, gleichmäßig und langsam ohne sichtbare Kontraktionen, ohne daß irgendein Körnchen im Entoplasma in Bewegung gerät. Der Eindruck ist derselbe, als ob man eine auf Papierband gezeichnete Figur langsam am Auge vorüberbewegte.“ Eine Erklärung kann er hierfür nicht geben. Doch weist er die von RAY LANCASTER (1872) über die gleiche Erscheinung geäußerte Ansicht zurück. Dieser Autor gewann bei *Urospora sipunculi* den Eindruck, leichte aber beständige Kontraktionen der Körperränder bewirkten diese Bewegung.

BÜTSCHLI (1882) teilt die Ansicht AIMÉ SCHNEIDER'S.

PLATE (1886) macht Diffusionsströme für die Bewegung der Gregarinen verantwortlich. FRENZEL (1892) ist der Auffassung, daß nicht nur endosmotische Prozesse vorliegen, sondern Nahrungstoffe und Protoplasma üben eine „Anziehung“ aufeinander aus, die das Tier wie ein Magnet vorwärts treibt.

Das Jahr 1894 brachte die Arbeit von SCHEWIAKOFF. Dieser Forscher gelangte durch seine Untersuchungen an *Clepsidrina munieri* aus *Chrysomela* zu der Ansicht, daß „die Bewegung der Gregarinen keine aktive sei, welche durch besondere Bewegungsorgane hervorgerufen wird, sondern sie ist nur die unmittelbare Folge einer Ausscheidung von sehr zahlreichen, zum Teil verklebten, gallertartigen Fäden, die in ihrer Gesamtheit einen Gallertstiel bilden, an dem die Gregarine gleichsam wie eine Pflanze an ihrem Stiel emporwächst“.

SCHAUDINN (1900) beobachtete die Bildung eines ähnlichen Gallertstieles auch bei den Coccidien und schloß sich der Annahme SCHEWIAKOFF'S an.

CRAWLEY (1902) untersucht die Bewegung bei *Stenophora juli* und *Echinomera hispida*. Er sah bei beiden Objekten keine ausgeschiedenen Gallertfäden, sondern nur unregelmäßige, aus Tröpfchen bestehende Komplexe. Er beobachtete seitliche Bewegungen des Vorderendes und schreibt diesen im Verein mit nicht sichtbaren Kontraktionen feiner Myoneme die Ursache an der Vorwärtsbewegung zu. Seiner Beobachtung nach befand sich ein Teil des Tieres stets in Berührung mit Deckglas oder Objektträger und war dadurch festgelegt. Er nahm nun an, daß nach rückwärts laufende feine Kontraktionswellen die Gregarine gleichsam abstießen und so vorwärts drängten. Die Abscheidung von Gallerte faßt er als

Folge der Bewegung auf. LÜHE (1904) findet die Erklärung von CRAWLEY weit einleuchtender, als die SCHEWIAKOFF'sche Theorie. HALL schließt sich 1907 der Ansicht CRAWLEY's an. C. SCHELLACK (1907) glaubt, daß die Bewegung der Gregarinen mit Hilfe der Rippenstreifen des Epicyts zustande komme. Seine Erklärungsweise wird uns später noch näher beschäftigen.

AWEBINZEW (1910) studiert die Bewegung der *Sporozoite* und *Merozoite* der Coccidien, und zum Vergleich zog er diese Verhältnisse bei den Gregarinen heran. Er hält die Ansichten von SCHEWIAKOFF und CRAWLEY für nicht zutreffend. Zum Schlusse bemerkt er: „Es unterliegt keinem Zweifel, daß die Schleimabsonderung eine gewisse Rolle bei der Fortbewegung der Gregarinen spielt, aber es ist nicht diejenige Rolle, welche ihr von SCHEWIAKOFF zugeschrieben wird.“ B. SOKOLOW (1912) erklärt die Bewegung der Gregarinen auf Grund seiner Untersuchungen durch die Kraft der Reaktion, welche bei der Abscheidung der gallertartigen Substanz entsteht.

Die soeben geschilderten Auffassungen der hier in Frage kommenden Autoren widersprechen einander. Weitere genaue Untersuchungen über jene interessante Frage erscheinen wünschenswert. Die vorliegende Arbeit macht es sich zur Aufgabe, jene Verhältnisse näher bei den Gregarinen des Mehlwurmdarmes zu untersuchen.

### Material und Technik.

In den Mühlen der Marburger Umgebung fand ich am häufigsten *Gregarina cuneata* und *polymorpha* vor. *Gregarina Steini* war seltener, *Steinina ovalis* kam mir am seltensten zu Gesicht. Zuletzt war ich genötigt, mir Material aus einer Vogelhandlung Hamburgs schicken zu lassen. Hier fand ich nur *Gregarina cuneata* und *Gregarina Steini*. *Gregarina polymorpha*, die ich sonst als ständigen Begleiter von *Gregarina cuneata* antraf, war ebenso, wie *Steinina*, hier nicht vorhanden. Die Gregarinen wurden in verschiedenen Lösungen, z. B. NaCl verschiedener Konzentrationen, Heidelberger Eiweißlösung, bestehend aus 20 ccm Hühnereiweiß, einem Gramm Kochsalz und 200 ccm Wasser, untersucht. Den Lösungen wurden zeitweise verschiedene Farbstoffe zugesetzt, z. B. Neutralrot, Bismarckbraun, Methylviolett, Methylenblau. Eine Fällung der gallertartigen Substanz wurde in der von SOKOLOW angegebenen Weise mit einer in 2—2,5 Proz. CaCl<sub>2</sub> gesättigten Tanninsäurelösung vorgenommen.

Außerdem wurden die Tiere in Suspensionen von *Sepia* nach der Methode SCHEWIAKOFF's oder Karmin in NaCl-Lösung oder Eiweiß-

lösung untersucht. Zum Studium des feineren histologischen Baues wurden  $2\ \mu$  dicke Schnitte durch einzelne Gregarinen angefertigt. Am besten bewährte sich hierbei die HEIDENHAIN'sche Färbung nach FLEMMING'scher Konservierung und Gegenfärbung mit Säurefuchsin. Auf andere Versuche mehr physikalischer Art, die teils ebenfalls zur Untersuchung der Cytologie notwendig waren, oder aber Aufschluß über die Mechanik der Bewegung geben sollten, wird im weiteren Verlaufe der Arbeit näher eingegangen werden.

### Cytologie.

Um die für das Verständnis der Bewegungserscheinungen notwendige Grundlage zu haben, war das Studium der Cytologie unserer Gregarinen, besonders aber eine Untersuchung der Cuticula und ihrer Differenzierungen notwendig. Nach unseren heutigen Anschauungen ist ja doch der Sitz der Bewegungsfähigkeit für einen großen Teil der Protozoen im Ektoplasma zu suchen. Diese Ansicht fand gerade in letzter Zeit — 1913 — für die Gregarinen eine besondere Bestätigung durch die Untersuchungen von DEMBOWSKI über Mero-tomie. Ähnliches stellte YAMAMOTO 1910 bei Trypanosomen fest.

Studien über den Bau der Cuticula finden wir im Jahre 1872 in der Arbeit von E. VAN BENEDEEN.

Eine zweite Arbeit fällt in das Jahr 1875 und stammt von AIMÉ SCHNEIDER.

In neuerer Zeit beschäftigte sich mit derselben Frage SCHEWIAKOFF 1894. Er gab eine vortreffliche Beschreibung der Cuticula der Gregarinen. Seine Untersuchungsobjekte waren: *Clepsidrina munieri* und *Echinomera hispida*. Er unterscheidet am Körper dieser Tiere: das Epicyt, die Gallertschicht, das eigentliche Ektoplasma und das Myocyt. Darauf folgt nach innen das Entoplasma. Die gleiche Differenzierung in fünf Schichten konnte auch ich am Körper der Mehlwurmgregarinen feststellen.

Das Epicyt, die äußerste homogene sich scharf abhebende Schicht des Ektoplasmas, zeigt auf dünnen Flächenschnitten von  $2\ \mu$  Stärke die sog. Rippenstreifen. Sie sind von SCHEWIAKOFF und anderen Forschern erwähnt und näher beschrieben worden. Auch bei unseren Mehlwurmgregarinen sind sie zu finden. Bei *Gregarina polymorpha* sind sie besonders dicht und fein, bei *Gregarina cuneata* dagegen sind sie geringer an Zahl, dafür aber um so breiter. Auch bei den beiden anderen Arten, bei *Gregarina Steini* und *Steinina ovalis* sind

sie vorhanden. Ein senkrechter Querschnitt durch *Gregarina polymorpha*, Abbildung Nr. 1, zeigt uns diese Cuticularrippen mit den dazwischen liegenden Furchen. Das Ganze sieht aus wie der Rand eines Zahnrades. Nach den Körperpolen zu konvergieren sie, wie dies bereits von SCHEWIAKOFF beschrieben wurde. So schematisch allerdings, wie er diese Verhältnisse abgebildet hat, konnte ich sie bei *Gregarina cuneata* und *Gregarina polymorpha* nicht finden. Ueberhaupt sind jene Verhältnisse bei den Mehlwurmgregarinen sehr schwierig zu studieren. Den hinteren Körperpol einer *Gregarina polymorpha* mit den hier konvergierenden Furchen zeigt Fig. 2. Verschiedene dieser Furchen scheinen sich in der Nähe des Hinterendes zu einem Bogen zusammenzuschließen. Andere dagegen bilden einen spitzen Winkel miteinander, genau wie es PAEHLER 1909 schildert. Ob ein Teil der Furchen sich am Pole in einem Punkte trifft, war nicht festzustellen.

Auf diese äußerste Schicht folgt die gallertartige Schicht, auf die ich später genauer einzugehen habe.

Darauf finden wir nach innen zu das eigentliche Ektoplasma, dem sich das Myocyt anschließt. Diese Verhältnisse stimmen mit den Untersuchungen von SCHEWIAKOFF, PAEHLER und SOKOLOW überein.

Das Vorhandensein der ebenerwähnten Schichten steht in einem wichtigen Zusammenhang mit den Bewegungserscheinungen. SCHEWIAKOFF konnte das Austreten von gallertartiger Substanz, die offenbar von der Gallertschicht produziert wurde, beobachten. Sie fließt in den Furchen zwischen den Cuticularrippen entlang. SCHEWIAKOFF schließt daraus auf ein passives Vorwärtsgleiten des Tieres in der entgegengesetzten Richtung. Er fragt sich nun: Wie tritt die Gallertflüssigkeit aus dem Tier heraus? Befinden sich Poren in den Furchen der Cuticula?

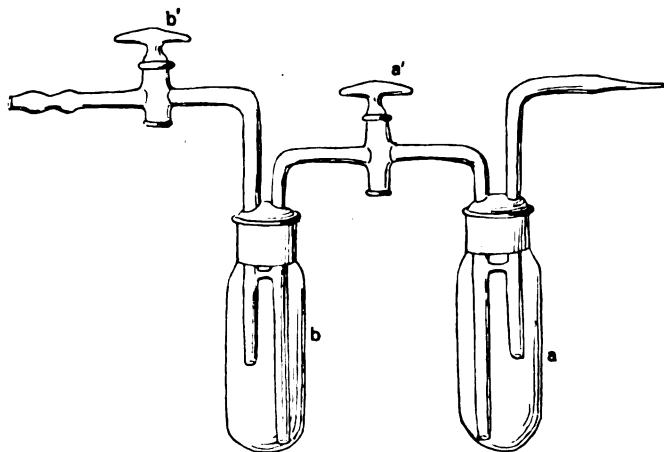
Weder auf optischen Längsschnitten, noch an Oberflächenbildern konnte er Poren finden. Auf ganz dünnen Querschnitten glaubte er solche porenartige Kanäle zu sehen. Auf Längsschnitten dagegen erschien die Cuticula meist völlig homogen. Er nahm daher am Grunde der Furchen feine Längsspalten zum Austritt der Gallertmasse an.

PAEHLER 1903 äußert sich hierzu: „Wenn ich am Grunde der Furchen liegende Längsspalten, wie sie SCHEWIAKOFF bei *Gregarina munieri* annimmt, und die der Gallerte zum Austreten verhelfen, an meinen Präparaten nicht habe feststellen können, so nehme ich doch auch für *Gregarina ovata* ihr Vorhandensein an. Bilder wie sie

SCHEWIAKOFF gibt, an denen man die Längsrippen und die dazwischen liegenden Furchen sehen kann, habe ich auch stets gefunden. Was SCHEWIAKOFF in Fig. 11 durch die er die Anwesenheit von „längsverlaufenden Spalten“ bestätigt finden will, zeichnet, sind eben nur die Furchen, die weniger stark gefärbt erscheinen, da das Protoplasma hier naturgemäß nicht so kompakt ausgebildet ist, wie in den Wülsten. Nach seiner Figur 10 aber müßten die Längsspalten mit dem Grunde der Furchen identisch sein und die Wülste der Gallertschicht direkt aufliegen.“

Diese Strukturverhältnisse kann ich bestätigen, wie Fig. 1 beweist. Aber bezüglich der Austrittsstellen der Gallertmasse stellen die beiden Forscher nur Vermutungen an. Hier mußte versucht werden, in anderer Weise vorzugehen als bisher, da Schnitte keinen Aufschluß gaben.

Ich kam zu folgenden Überlegungen: Entweder sind diese vermuteten Poren zu klein oder aber, die einander zu sehr gleichenden Brechungsindices hindern unser Auge, tiefer einzudringen. Aber auch beides konnte gleichzeitig zutreffen.



Textfig. A. Beschreibung des dargestellten Apparates im Text.

Ich versuchte nun mit stark lichtbrechenden Medien zu arbeiten. Als sehr geeignet für meine Untersuchungen erwies sich Tetrachlorkohlenstoff. Er besitzt einen hohen Brechungsindex. Ich konstruierte mir nun folgenden Apparat, von dem Textfig. A eine Abbildung gibt.

In zwei druckfesten Gläsern wurden zwei doppelt durchbohrte Glasstopfen eingeschliffen und ein System von Glasröhren, das an

zwei Stellen mit Hähnen versehen war, eingeführt. Gefäß a war durch ein in eine Spitze ausgezogenes Glasrohr mit der Außenluft in Verbindung und konnte durch Hahn a' von dem Gefäß b luftdicht abgeschlossen werden. Gefäß b stand mit einer Wasserstrahl-luftpumpe in Verbindung und konnte von derselben durch den Hahn b' luftdicht isoliert werden.

Gefäß a wurde nun zu  $\frac{3}{4}$  mit Tetrachlorkohlenstoff gefüllt. Ich fertigte mir nun von besonders großen Gregarinenexemplaren, Ausstriche an, die ich lufttrocken werden ließ, und führte die Objektträger in das Gefäß b ein, was hierauf fest verschlossen wurde. Der Hahn a' wurde geschlossen. Durch Öffnen des Hahnes b' wurde das Gefäß b mit der Wasserstrahl-luftpumpe in Verbindung gesetzt. Hierauf wurde stundenlang evakuiert, um aus eventuellen Öffnungen oder Poren im Körper der Tiere nach Möglichkeit die Luft zu verdrängen. Dann wurde Hahn a' ein klein wenig geöffnet. Die Außenluft drückte nun die Flüssigkeit aus dem Gefäß a durch die haarfeine Öffnung an dem Hahne a' langsam in das evakuierte Gefäß b hinüber und drang allmählich auch in den Körper der Tiere ein. Nach drei bis vier Stunden wurden die Präparate nach Auflegen eines Deckglases unter dem Mikroskop untersucht. Hierzu gehörte einige Übung, die ich mir nach mehreren verunglückten Versuchen erwarb. Man mußte sehr rasch arbeiten, da durch die starke Verdunstung des Tetrachlorkohlenstoffes oft schon nach kurzen Augenblicken das Deckglas beschlug, und die Beobachtung unmöglich wurde.

Bei dem ersten geglückten Versuch fand ich die aufgewandte Mühe reichlich belohnt. Der Körper der Tiere zeigte sich von vorn bis hinten mit feinen Punkten besät. Es waren Schatten totaler Reflexion, die ich als Vertiefungen, Poren in der Cuticula, auslegen möchte. Ihre Anordnung auf dem Körper läßt mich vermuten, daß diese Öffnungen zwischen den Epicytstreifen liegen. Vielleicht durchbrechen sie dort eine feine Epicytschicht, die auf dem Querschnitt Fig. 1 unter den Rippen, etwas schwächer gefärbt als diese, zu sehen ist.

Darunter liegt die Gallertschicht. Auf Fig. 1 hebt sie sich deutlich durch die Färbung ab.

Nach den Beobachtungen von SCHEWIAKOFF, PAEHLER und SOKOLOW folgt jetzt das eigentliche Ectoplasma und hierauf eine Schicht muskulöser Fibrillen.

Bei den meisten Polycystideen werden Ringfibrillen beschrieben. Sie bestehen nach den Beobachtungen verschiedener Autoren aus

scharf umrandeten Kanälchen, die von einer flüssigen Masse erfüllt sind. „Es sind helle, auf Querschnitten kreisrunde Gebilde, welche durch querlaufende, stärker lichtbrechende Scheidewände in hintereinander liegende Abschnitte eingeteilt werden“, sagt SCHEWIAKOFF. Er weist auf eine Ähnlichkeit dieser Fibrillen mit denjenigen von STENTOR hin. Er schildert nun ferner Anastomosen, welche diese Ringmyoneme miteinander verbinden. Das Objekt, welches SCHEWIAKOFF zur Untersuchung vorgelegen hat, scheint ein verhältnismäßig günstiges gewesen zu sein.

Bei sämtlichen Mehlwurmgregarinen war diese Beobachtung weit schwieriger durch die Kleinheit und schwere Färbbarkeit der Objekte. Auch hier fand ich Ringmyoneme. Fig. 3 gibt davon ein Bild. Sie scheinen mir aus einer homogenen Masse zu bestehen, in die kleine Körnchen eingebettet sind. Auch Anastomosen konnte ich feststellen, die ähnlich gebaut erschienen, oft aber das folgende Ringmyonem nicht erreichten, sondern blind im Körperplasma endigten (Fig. 3).

Auf Querschnitten (Fig. 1) durch *Gregarina polymorpha* konnte ich Spuren davon an der Grenze zwischen Ecto- und Entoplasma bemerken.

Außerdem aber machte ich die Beobachtung, daß auf dünnen Flächenschnitten, Fig. 4, *Gregarina cuneata* zwischen den Epicyststreifen, manchmal dicht an dieselben angeschmiegt, noch andere Differenzierungen zu finden waren, die sich ebenso wie die Myoneme färbten. Sie waren anscheinend homogen und zeigten feine Anschwellungen. Ich glaube darin ebenfalls kontraktile Elemente, Längsmyoneme, zu sehen. Sie waren außerordentlich fein. Auf Querschnitten (Fig. 1) fand ich an der Basis der Epicyststreifen ab und zu einen feinen Punkt, genau gefärbt wie die Myoneme. Ich vermute hierin die Querschnitte solcher Anschwellungen.

ENGELMANN 1875 hält die Myoneme für doppelbrechend. Nach den Beobachtungen von PRENANT 1903 und SOKOLOW ist dies nicht der Fall.

Ich selbst untersuchte Myoneme unter dem Polarisationsmikroskop und konnte trotz Einfügung eines Blättchens vom Rot erster Ordnung, einer recht empfindlichen Vorrichtung, nichts von Doppelbrechung nachweisen.

Längsmyoneme sind bei Polycystideen noch kaum beschrieben. MARSHALL schildert 1892 solche bei *Clepsidrina blattarum*. Es gelang ihm, die Myoneme zu isolieren. Jede Fibrille bestand aus zwei hellen Bändern, die parallel zueinander lagen. Auf seiner Zeichnung Fig. 22 erscheinen sie homogen. „Die Streifen verlaufen nicht wie die Längsrippen von einem Ende des Tieres zum anderen. Ihre

Länge beträgt vielmehr nur ein Drittel oder ein Viertel des Längsdurchmessers, obwohl die ganze Clepsidrina von ihnen bedeckt ist. Bei Beobachtung des lebenden Tieres liegen sie stets unter den Längsrippen.“ Auf Querschnitten fand er sie nicht. Er war daher nicht imstande, zu sagen, welcher Schicht der Cuticula sie angehörten.

Bei Monocystideen und Selenidien sind Längsmyoneme des öfteren gefunden. So bildet z. B. BÜTSCHLI 1882 Längsmyoneme bei *Monocystis pellucida* aus dem Darmkanal von *Nereis pelagica* ab. (Taf. 34, Fig. 4.) Ähnliches berichten CLAPARÈDE 1861 und LIEBERKÜHN 1865. CAULLERY und MESNIL beschreiben 1899 Längsmyoneme an dem von ihnen entdeckten *Selenidium „en virgule“*. LOUIS BRASIL 1907 bestätigt dies für andere Gregarinen der gleichen Gruppe. 1909 beschreibt er Ring- und Längsmyoneme bei *Selenidium pendula*. 1908 fand ANNIE PORTER Längsmyoneme bei *Merogregarina amaroucii*. AWEBINZEFF erwähnt Längsmyoneme 1909 bei einer den Selenidien nahestehenden Gregarine aus dem Darmkanal von *Amphiporus* sp. aus dem Kola-Fjord. In seiner interessanten Arbeit über die Monocystideen der Oligochäten berichtet EDMOND HESSE 1910 über Ring- und Längsmyoneme bei *Monocystis lumbrici*, *Zygocystis Légeri* und dasselbe für *Nematocystis*-Arten. Bei *Monocystis magna* findet er nur Ringmyoneme, glaubt aber aus der Bewegung des Parasiten auf Längsfibrillen schließen zu müssen. Im allgemeinen werden bei Selenidiumarten die Längsmyoneme nur an einem Körperpol gefunden, bei den übrigen laufen sie über den ganzen Körper hin. Im selben Jahre 1910 erschien die Arbeit von SWARCZEWSKY. Er untersuchte die Myoneme von *Lankesteria* sp., einer in Turbellarien des Baikalsees lebenden Gregarine. Er fand deutlich ausgeprägte Längsmyoneme, die nach seiner Beobachtung auf dem Pole des Tieres zusammenlaufen. Dort sah er einen stark färbbaren Körper, der das Zentrum des Myonembündels bildete. Aus seinen Abbildungen Fig. 9 und 10 zieht er den Schluß, daß die Myoneme keine lokalen Plasmaverdichtungen sondern chromatische Gebilde sind.

Auf solche Fragen gibt uns das Studium der Mehlwurmgregarinen keine Antwort. Die Tiere sind ihrer Kleinheit und schlechten Färbbarkeit halber außerordentlich ungünstige Objekte. OLGA SCHIFFMANN, die 1919 die Bildung der Gametenkerne bei *Gregarina cuneata* untersuchte, machte die gleiche Erfahrung.

Zusammenfassend ist zu sagen, daß die Rippenstreifen einer dünnen, naturgemäß etwas zarter als diese gefärbten Epicytschicht aufliegen. In diese eingebettet, dicht an die Epicytstreifen an-



geschmiegt, glaube ich Längsmyoneme gefunden zu haben (Fig. 4). Auf Querschnitten (Fig. 1) sind ihre durch Kontraktion hervorgerufenen Anschwellungen als dunkle Punkte zu erkennen. Sie liegen dicht neben den Zähnchen, den Querschnitten der Rippenstreifen. Der Grund der Furchen scheint von feinen, auf Schnitten nicht festzustellenden Poren durchbohrt zu sein. Diese führen in die darunter liegende Gallertschicht und verhelfen der von dieser produzierten Schleimmasse zum Austritt. Die Gallertschicht ist auf Fig. 1 deutlich zu erkennen. Darauf folgt nach innen zu das eigentliche Ectoplasma. An der Grenze zwischen diesem und dem Entoplasma liegt die Schicht der Ringfibrillen mit zahlreichen oft frei im Plasma endigenden Anastomosen. Das Entoplasma zeigt keine Besonderheiten.

### Die Mechanik der Bewegung.

#### a) Die „aktive“ Bewegung.

Zuerst möchte ich über diejenige Bewegungsweise bei den Gregarinen berichten, die durch deutlich sichtbare Tätigkeit der Myoneme hervorgerufen wird.

Unter den von ihm auf die Bewegung hin studierten Gregarinen erwähnt SOKOLOW 1912 *Gregarina cuneata* und *steini*, berichtet aber davon in der Schilderung seiner Beobachtungen nichts. *Steinina oralis* hat er nicht auf die Bewegungserscheinungen untersucht.

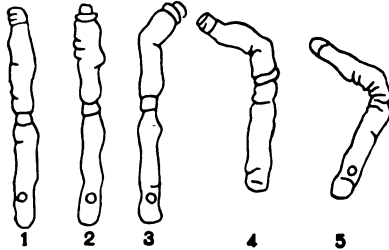
Wenn SOKOLOW 1912 *Gregarina pol.* als mit der Fähigkeit zu „schwacher Aktivität“ ausgestattet bezeichnet, so kann ich seiner Auffassung nicht beistimmen.

Das Tier zeigt zu Zeiten außerordentlich starke Kontraktionen der Myoneme.

Dadurch können an allen Stellen des Körpers ringförmige Einschnürungen hervorgerufen werden, die sogar zu Ortsveränderungen führen können. Besonders oft kann man das Auftreten eines ringförmigen Wulstes in der Nähe des Septums bemerken. Textfig. B, Stadien 2,3 und Textfig. C zeigen dies deutlich. Seitliche teilweise Einschnürung führt zu einer Beugung des Körpers. Manchmal bemerken wir lebhaftere Bewegungen am Protomeriten. Auch er kann ganz durchlaufende Einschnürungen, ringförmige Wülste zeigen oder ganz in den Deutomeriten eingezogen werden, ähnlich wie es SOKOLOW für *Stenophora juli* beschreibt. Ferner weist der Protomerit oft seitliche Einschnürungen auf und beugt sich, dem Zuge der Myoneme folgend. Textfig. D.

Auch das Hinterende zeigt ganz durchlaufende oder teilweise Einschnürungen. Textfig. E und F.

Alle jene eben geschilderten Kontraktionserscheinungen können mit einem plötzlichen Ruck hervorgerufen und in der gleichen Weise wieder aufgehoben werden. Dieser Vorgang kann mit solcher Kraft geschehen, daß die Tiere, besonders bei Bewegungen des Hinterendes, ein Stück vorwärts getrieben werden.



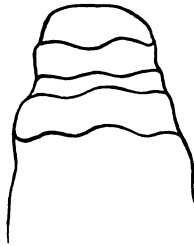
Textfig. B.



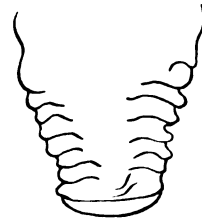
Textfig. C.



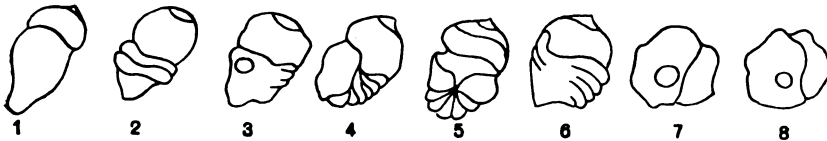
Textfig. D.



Textfig. E.



Textfig. F.



Textfig. G.

Textfig. B—G. Federzeichnungen nach dem Leben.

Textfig. B. Kontraktionsbewegungen einer Syzygie von *Gregarina polymorpha*.  
Vergr. 105.

Textfig. C u. D. Bewegungen am Protomeriten von *Gregarina polymorpha*.  
Vergr. 850.

Textfig. E u. F. Einschnürungen am Hinterende von *Gregarina polymorpha*.  
Vergr. 1000.

Textfig. G. Kontraktionsbewegungen von *Steinina ovalis*. Vergr. 180.

CRAWLEY 1905 spricht in der Einleitung zu dieser Arbeit allgemein von Gregarinenbewegung. Er findet einen recht anschaulichen Vergleich für die eben besprochenen Bewegungserscheinungen. „Further, the contractions are of such a character that the true form is by no means disguised, and the resumption of this true form is always a very sudden process. We may conclude from this that the ectosarc is stiff and elastic. Under the force of the contractile elements it may suffer contortion, but as soon as the force is released the proper form is resumed with a sudden jerk. The comparison may be made with a hollow india-rubber ball, or perhaps better, it may be said that these Gregarines behave as if their ectosarc were composed of india-rubber.“

Bei *Gregarina cuneata* und auch *Gregarina steini* ist die Fähigkeit zu solchen aktiven Bewegungen weniger groß. Bei *Gregarina cuneata* äußert sich die Kontraktion der Myoneme in einer Weise, wie ich sie bei den anderen Mehlwurmgregarinen nicht gefunden habe. Bei dieser Form findet man manchmal die Epicyststreifen in eigentümlicher Weise aus ihrer gewöhnlichen Lage herausgedreht. Sie laufen dann spiralig um den Körper herum.

Interessant sind dagegen die Bewegungserscheinungen bei der so äußerst selten auftretenden *Steinina ovalis*. Sie ist mit ganz besonderer Aktivität ausgerüstet, die sich bis in die vorderste Spitze des Protomeriten hinein erstreckt.

Einen Begriff davon gibt uns Textfig. G 1—8. Die Gestalt des Parasiten wechselt derartig, daß ohne nähere Kenntnis z. B. das in G 1 dargestellte Tier unmöglich für identisch mit dem in G 7 und 8 abgebildeten angesehen würde.

G 1 zeigt *Steinina* ungefähr in normaler Gestalt. Die ringförmigen Wülste läßt uns G 2 erkennen. G 3 und 6 zeigen seitliche Furchen. Auf G 4 und 5 erhält der Körper durch eine Menge seitlicher Einschnürungen das Aussehen, als ob er im Begriffe wäre, in eine große Anzahl von Stücken zu zerfallen. Auch hier kann ein einziger Ruck das ganze Bild ändern und das Tier in seine normale Gestalt zurückführen. Bei diesen wie bei den vorher beschriebenen Gestaltsveränderungen (Fig. B—F) könnte man der Meinung sein, daß es sich um Schrumpfungen oder andere auf äußere Ursachen zurückzuführende Änderungen handelte, doch zeigt die Reihe der aufeinanderfolgenden Beobachtungen sowie die Rückkehr in die gewöhnliche Form, daß davon nicht die Rede sein kann.

Dieser fortwährende Gestaltswechsel von *Steinina* ist die Ursache verschiedentlich Irrtümer geworden. FRIEDRICH STEIN, ihr Ent-

decker, beschreibt 1848 den Parasiten als neue Spezies unter dem Namen *Stylorhynchus ovalis*. AIMÉ SCHNEIDER 1875 faßt dasselbe Tier als Cephalonten von *Gregarina polymorpha* auf. BERNDT 1902 hatte unter dem Namen *Gregarina polymorpha* außer dem richtigen Vertreter dieser Art ebenfalls *Steinina* beschrieben.

Als ganz besonders beweglich erweist sich der Protomerit von *Steinina*, der in eine Spitze, das sogenannte Rostrum ausläuft. Nach allen Richtungen im Raum kann er hinbewegt werden. Das Tier sieht aus, als ob es herumschnuppert. Dieser Eindruck wird durch eigenartig suchende Bewegungen, die von feinen ringförmigen Einschnürungen bis an die Spitze des Rostrums begleitet werden, hervorgerufen. Nach oben, nach unten und nach den Seiten hin finden diese Bewegungen statt.

Auch scheint der Körper des Tieres sich eine weit größere Beweglichkeit bewahrt zu haben, als wir sie bei den übrigen Mehlwurmgregarinen vorfinden. Stößt eine *Steinina* auf einen Widerstand, z. B. auf eine andere Gregarine, so prallt das Tier weder vor dem Hindernis zurück, noch erfolgt ein Ausweichen durch Einknickung oder Einschnürung, wie wir es bei den mehr starren Formen finden. Der nachgiebige Körper paßt sich dem Hindernis mit einer an Amöben erinnernden Beweglichkeit an und gleitet, Ecken und Kanten desselben umfließend oder Vertiefungen ausfüllend, daran vorbei. Eine *Gregarina polymorpha*, *cuneata* oder *steini* wäre hierzu nicht imstande.

#### b) Die „passive“ Gleitbewegung.

Bei weitem eigenartiger ist nun die sogenannte „passive Gleitbewegung“, wie sie von verschiedenen Autoren genannt wird. Sie ist nur von wenigen Forschern eingehend studiert. Eine einheitliche Ansicht hierüber ist bis jetzt nicht erzielt. SCHEWIAKOFF 1894 stellte die Behauptung auf, daß die fortschreitende Bewegung der Gregarinen und die Abscheidung gallertartiger Substanz, die bekanntlich dabei beobachtet wird, in engem Zusammenhang stehen. Seine Ansicht allerdings, daß die Gregarine an dem entstehenden Gallertstiel einer Pflanze gleich emporwächst, traf von allen Seiten auf Widerspruch.

1902 versuchte CRAWLEY der Sache näher auf den Grund zu gehen. Er legt sich die Frage vor: Können die Gregarinen kriechen oder schwimmen? Er nimmt das erstere an, denn: „In all microscopic mounts gregarines either lie against the under surface of the cover-

glass or upon the slide, which can be shown by raising or lowering the tube of the microscope. This shows that all studies on progression have been made on animals which are in contact with a surface.“ Ist dadurch für alle Fälle streng bewiesen, daß die Gregarinen nur kriechen können? Meiner Ansicht nach — nein. Ich versuchte ebenfalls dieser Frage in anderer Weise auf den Grund zu kommen. Bringen wir einen Körper in ein Medium, das die gleiche Dichte wie er besitzt, so wird er nach dem Prinzip des Archimedes dadurch jeder Einwirkung der Schwere entzogen. (RHUMBLER 1899 „Allgemeine Zellmechanik“ macht von dem Prinzip auch für seine Untersuchungen Gebrauch.) Bewegt dieser Körper sich trotzdem vorwärts, so ist er aus eigener Kraft imstande, Arbeit gegen die Reibung seiner Umgebung zu leisten. Er zeigt dadurch, daß er zu Schwimmbewegungen fähig ist. Es mußte nun zuerst ein solches Medium gefunden werden, das das gleiche spezifische Gewicht, oder physikalisch genauer ausgedrückt, die gleiche Dichte wie der Tierkörper besaß.

Dazu machte ich Gebrauch von der sogenannten Schwebemethode. Hiernach bestimmt man das spezifische Gewicht der Erythrocyten. Hierzu wird Benzol und Chloroform verwendet. OTTO MÜLLER 1896 stellte nach der gleichen Methode das spezifische Gewicht der Diatomeen fest. Er benutzte hierzu eine Silbernitratlösung. Für mich lag die Sache insofern schwieriger, als ich diese Bestimmung an dem weit empfindlicheren Protoplasmakörper eines Entoparasiten vornahm. Ich mußte eine Lösung finden, die schwer genug war und vor allen Dingen das Tier nicht schädigte. Benzol, Chloroform oder gar Silbernitrat hätten unbedingt giftige Wirkungen zur Folge gehabt.

Ich ging aus von der Heidelberger Eiweißlösung und erhöhte deren Konzentration soweit angängig durch weiteren Zusatz von Eiweiß. Als sich dies nicht als ausreichend erwies, setzte ich spurenweise Kochsalz hinzu, bis die Tiere schwebten, d. h. das spezifische Gewicht der Lösung mit demjenigen des Parasiten übereinstimmte. Hierauf wurde durch sorgfältige Bestimmung mit einem feinen Pyknometer die Dichte festgestellt, deren Wert sich zu 1,0734 bei 17° ergab. Alle dazu notwendigen Versuche wurden bei der gleichen Temperatur 17° C vorgenommen. Lösungen und Gefäße waren bereits 24 Stunden vorher in den Versuchsraum gebracht, um dies zu ermöglichen und die Genauigkeit nicht zu beeinträchtigen. Frische Gregarinen wurden nun in dieser Lösung unter dem Mikroskop untersucht, und ich konnte zweimal bei Dunkelfeldbeleuchtung und ebensooft bei gewöhnlichen Beleuchtungsverhältnissen eine langsame Vorwärtsbewegung ge-

wahren, bei der ersten Beobachtungsweise begleitet von leichten Myonemkontraktionen, bei der zweiten ohne solche. In drei Fällen fand Gallertabscheidung statt. Ich glaube hieraus den Schluß ziehen zu dürfen, daß die Gregarinen zu Schwimmbewegungen befähigt sind. Ob sie oft davon Gebrauch machen, hängt höchstwahrscheinlich doch wohl von dem Zustand ab, in welchem ihr natürliches Medium, der Darminhalt, sich gerade befindet. Ist dieser dickflüssig, so wird sich den Tieren wohl kaum Gelegenheit zu einer Schwimmtätigkeit bieten. Die Versuchsbedingungen sind ja keine natürlichen und mancher Vorgang bei der Bewegung, der sich im Körper der Wirtstiere unter normalen Verhältnissen abspielt, wird uns entgehen.

Kehren wir nun zum Studium der Gleitbewegung zurück.

Während dieser wird Gallertmasse abgeschieden, die durch die Poren hervortritt und in den Cuticularfurchen entlang fließt, um am Hinterende des Tieres abgegeben zu werden. So weit stimmen die Beobachtungen der verschiedenen Forscher überein. Die große Streitfrage aber ist diejenige: ist die Abscheidung der Gallertmasse als Ursache oder als Folgeerscheinung der Bewegung anzusehen?

CRAWLEY nimmt unter allen Umständen feine Myonemkontraktionen, die uns unter gewöhnlichen Beobachtungsverhältnissen entgehen, als Ursache der sogenannten Gleitbewegungen an. Das Austreten der Gallertmasse faßt er als Folge derselben auf. LÜHE 1904 hält die CRAWLEY'sche Theorie für weit einleuchtender als die von SCHEWIAKOFF ausgesprochene Ansicht, daß die Gallertmasse die Ursache der Bewegung sei. SOKOLOW 1912 ist der entgegengesetzten Ansicht wie CRAWLEY.

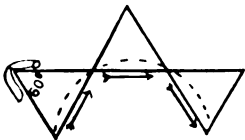
Beobachten wir die Gregarinen in NaCl 1proz. oder anderen Medien, so bemerken wir, daß die Tiere wohl lange Zeit hindurch sich in gerader Linie bewegen können. Plötzlich kann am Körper eine Einschnürung auftreten und das Tier wird aus seiner Bahn abgelenkt.

SCHEWIAKOFF schildert den Vorgang folgendermaßen: „Die Gregarine wird aus der früheren Bewegungsrichtung nach der Seite hin abgelenkt, nach welcher die Einschnürung am Gregarinenkörper erfolgte. Bleibt die Einschnürung längere Zeit hindurch bestehen, so wird die Bewegung bogenförmig, ja sie kann sogar zu einer spiraligen oder schleifenförmigen werden. Wird die Einschnürung aufgehoben, d. h. die Gregarine wieder gerade gestreckt, so wird die Bewegung von neuem geradlinig.

Die Ursache erklärt er sich folgendermaßen: „Die Veränderung der Bewegungsrichtung wäre dadurch zu erklären, daß bei der Ein-

schnürung der Gregarine die Gallertfäden nicht mehr gleichmäßig von der ganzen Körperoberfläche ausgeschieden werden. Auf der Seite, wo die Einschürung erfolgt, wird die Ausscheidung der Gallertfäden gehemmt, auf der entgegengesetzten Seite dagegen mehr Gallerte ausgeschieden werden. Infolge dieses ungleichmäßigen sozusagen einseitigen Wachstums des Gallertstieles muß der letztere sich krümmen und die Gregarine nach der einen Seite gebeugt werden, wodurch die Bewegungsrichtung geändert wird.“

SCHEWIAKOFF ist der Meinung, daß zum Beschreiben einer Kurve unbedingt eine Gestaltveränderung des Tieres notwendig ist. CRAWLEY machte ähnliche Beobachtungen und ich kann dieselben aus eigener Erfahrung heraus bestätigen. Die Kurven solcher Gregarinen können recht interessant sein. Zickzacklinien, eigentümlich geschweifte Kurven, Schleifen und endlich vollständig in sich geschlossene Kreise können entstehen. Eine leicht einzusehende physikalische Überlegung belehrt uns über den Grund jener eigenartigen Erscheinungen. Durch die seitliche Krümmung bilden die beiden scheinbar dadurch entstehenden Teile des Tieres einen Winkel miteinander, der von sehr verschiedener Größe sein kann. Die das Tier forttreibende Kraft, mögen wir sie nun mit SOKOLOW oder SCHEWIAKOFF in der abgeschiedenen Gallertmasse suchen oder mit CRAWLEY feine Kontraktionsbewegungen der Myoneme annehmen, wird dadurch in zwei Komponenten zerlegt. Die daraus resultierende Bewegung können wir nach dem Satz vom Parallelogramm der Bewegung konstruieren. Sie findet in der Richtung der Diagonale statt. Bleibt der Winkel nun gleich groß, so entsteht ein Kreis. Dies veranschaulicht Textfig. H für einen Winkel von 60 Grad, Textfig. J für 140 Grad. Punkt für Punkt können wir ihn uns



Textfig. H.



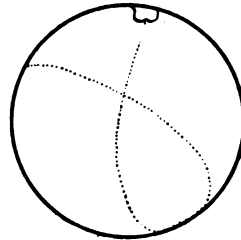
Textfig. J.

Textfig. H und J. Abhängigkeit der Wegkurven vom Krümmungswinkel der Tiere.

konstruieren. Sein Radius wächst direkt proportional mit dem Winkel. Ein Winkel von 180 Grad würde einen Kreis vom Radius unendlich ergeben, d. h. die Bewegung findet in einer Geraden statt. Die interessante schleifenförmige Kurve von Textfig. H verdankt ihre Entstehung einer fortwährenden Änderung des Winkels.

Bei der der Encystierung vorausgehenden Bewegung läßt sich die Abhängigkeit der Kurvengestalt vom Krümmungswinkel der Tiere am schönsten beobachten. Anfänglich beschreiben die beiden Syzygiten eine gerade Bahn. Nach einiger Zeit bilden die Tiere einen immer kleiner werdenden Winkel miteinander. Die Kurve wird enger und enger bis zu einem Minimum, welches erreicht ist, wenn die Tiere dicht aneinander geschmiegt liegen. Sie kreisen dann auf derselben Stelle um sich selbst. Aber ebenso oft kann auf der einen Seite des Tieres sich eine Einschnürung zeigen und die Fortbewegung in einer Kurve erfolgen, deren konkave Seite gerade nach der entgegengesetzten Seite zu liegt. Ebenso gut können sie sich mit einer einseitigen Einschnürung in gerader Richtung vorwärts bewegen. Dies zeigt sich uns deutlich bei Beobachtung der Bewegung von

*Gregarina steini*. Der Körper dieses Tieres zeigt fast immer eine eigentümlich nach einer Seite gebogene Gestalt. Wohl gleitet das Tier oft ohne sichtbare Gestaltsveränderung in einer Kurve dahin, aber ebenso oft wird die Bewegung vollkommen geradlinig oder erfolgt in der entgegengesetzten Richtung, als wir es nach der Krümmung des Körpers erwarten sollten. Also dürfen wir die Einschnürungen nicht ausschließlich als Ursache für die Änderungen der Bewegungsrichtung ansehen. Hier liegt ein Widerspruch, der sich meiner Meinung nach nicht vereinigen läßt mit der Auffassung, daß die Gallertmasse die Veranlassung zur Fortbewegung ist, wohl aber ist jene Erscheinung zu erklären durch die Arbeit der Myoneme. Daß die einzelnen Fibrillen unabhängig von einander arbeiten können, zeigt ihre Fähigkeit, partielle Einschnürungen am Körper hervorzurufen. Es brauchen auf der konvexen Seite des Tieres die Kontraktionswellen nur flacher zu sein, als auf der konkaven Seite. Der durch diese Vorgänge im umgebenden Medium erzeugte Gesamtstrom biegt am Hinterende nach der konvexen Seite des Tieres um. Dadurch entsteht eine Komponente der Reaktionskraft, die das hintere Ende nach der konkaven Seite herumdückt. Dadurch kann die anfänglich krummlinige Bewegung in eine geradlinige, ja in extremen Fällen in eine Kurve nach der entgegengesetzten Seite verwandelt werden.



Textfig. K.  
Schleifenförmige Bahn  
einer Gregarine.



c) Das Verhalten der gallertartigen Substanz  
und die „passive Gleitbewegung.“

SOKOLOW machte die Beobachtung, daß die gallertartige Substanz augenscheinlich nicht immer in der gleichen Weise zusammengesetzt war. Er fällte sie unter stets gleichbleibenden Versuchsbedingungen. Er machte diese Untersuchungen an *Stenophora juli* und brauchte nun hierbei Gregarinen aus verschiedenen *Julus*. Als Fällungsmittel brauchte er eine in 2—2,5 Proz.  $\text{CaCl}_2$  gesättigte Tanninsäurelösung.

„Bei der Bewegung mancher Gregarinen wurde die von ihnen abgeschiedene gallertartige Substanz in Form von Bündeln feiner Fäden in einer Entfernung von 0,2—0,35 mm vom hinteren Körperende entfernt ausgefällt; die gallertartige Substanz anderer in Bewegung begriffener Gregarinen dagegen wurde nur 0,09—0,05 mm vom hinteren Körperende entfernt gefällt. Nur selten gelang es mir, die gallertartige Substanz der sich fortbewegenden Gregarine in einer Distanz von 0,7—0,9 mm vom hinteren Körperende zur Fällung zu bringen. Das verschiedene Fällungsvermögen der gallertartigen Substanz in 1 Proz. Kochsalzlösung spricht bis zu einem gewissen Grade zugunsten meiner Vermutung.“

Ferner gelang es ihm niemals, die gallertartige Substanz weiter als 1,2 mm entfernt vom hinteren Ende zur Fällung zu bringen. Hieraus schließt er auf rasche Löslichkeit in  $\text{NaCl}$  1 Proz. Auch bei erhöhter Temperatur machte er die Erfahrung, daß die Substanz (25—26 Grad C) schwerer zur Fällung zu bringen war. Er konnte sie unter diesen Bedingungen sogar nur in einer Entfernung von 0,45—0,05 mm ausfällen. Und doch erreichte bei dieser Temperatur nach seiner Angabe die Vorwärtsbewegung ihr Maximum.

Er schließt nun daraus: „Hieraus werden also zwei für uns äußerst wichtige Tatsachen festgestellt: 1. daß die gallertartige Substanz rasch in 1 Proz. Kochsalzlösung aufgelöst wird und 2. daß die gallertartige Substanz sich hinter der Gregarine in Form eines Bündels feiner zerstreut liegender Fädchen ablagert.“

Daß sich die gallertartige Substanz recht verschieden verhalten kann, fand auch ich bestätigt, aber in anderem Sinne, als es SOKOLOW auslegt. Gregarinen, die man nach der Methode von SCHEWIAKOFF in  $\text{NaCl}$  1 Proz. in der mit dem Finger feine *Sepia* verrieben war, hineinbrachte, zeigten nach einiger Zeit eine Spur, ganz wie es der eben erwähnte Forscher beschreibt. Ich nahm nun nach der Vorschrift Sokolow's den Versuch vor, die gallertartige Substanz zu

fällen. Dies geschah mit der größten Vorsicht. Auch ich sah nach dieser Methode in vielen Fällen feine Gallertfäden und fand also soweit die Beobachtungen Sokolow's bestätigt. Manchmal gelang es mir aber auch bei Anwendung der größten Vorsicht nicht, irgend etwas Gallertartiges auf der in Tuscheemulsion deutlich erkennbaren Spur nachzuweisen, obgleich die Gregarinen sich ruhig gleitend scheinbar ohne Gestaltveränderung vorwärts bewegten.

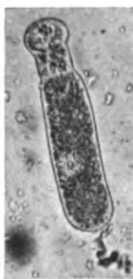
Recht oft konnte ich eine merkwürdige Beobachtung machen. Ich sah am Hinterende der in Gleitbewegung befindlichen Gregarinen, bei denen es mir des öfteren glückte, das Wandern der Gallertmasse zu beobachten, das Austreten von Fäden, die erstarrten und dem Tiere gleichsam wie Borsten anhingen. Das Hinterende erhielt dadurch einige Ähnlichkeit mit einem Besen. Das Fließen der Gallertmasse hörte auf. Während dieses Vorganges bewegten sich die Gregarinen ruhig gleitend vorwärts. Manchmal konnte ich dabei eine geringe Verlangsamung feststellen. Eine helle Wegspur entstand in der Sepialösung, die nach sorgfältigster Untersuchung nicht die geringste Gallertfällung ergab. Ich untersuchte die Borstenanhänge des Hinterendes mit Methylviolett. Die starren Fäden erwiesen sich durch die Färbung als aus Gallerte bestehend. Textfig. L (nach dem lebenden Objekt gezeichnet) zeigt die Anhänge am Hinterende von *Gregarina polymorpha*. Diesen Vorgang konnte ich sowohl an kühlen Wintertagen, wie im heißen Juli um die Mittagszeit bei Temperaturen von 20 bis 30 Grad beobachten. Also halte ich eine Abhängigkeit dieser merkwürdigen Erscheinung von der Temperatur für ausgeschlossen. Die helle Spur schien dadurch entstanden, daß das Hinterende des Tieres mit den Gallertanhängen die Sepiakörnchen zur Seite gefegt hatte.

Bei *Gregarina cuneata* beobachtete ich zeitweise denselben Vorgang. Manchmal aber bot sich mir ein anderes Bild unter den gleichen Versuchsbedingungen. *Gregarina cuneata* bewegte sich gleitend vorwärts in NaCl-Speziallösung. Die Abscheidung der Gallertmasse war deutlich bei fortwährender Änderung der Beleuchtung durch Bewegen des Spiegels, durch Heben und Senken des Beleuchtungsapparates und beim Arbeiten mit kleiner Blende zu sehen. Es sah in den Fällen aus, als ob eine Rauchwolke aus einem Schornstein tritt. Von einer Zusammensetzung der Gallertabscheidung aus einzelnen Fäden war nichts zu bemerken. Die Wolke erstarrte, das Fließen der Gallertmasse hörte auf. Die Masse sah am Hinterende aus, als ob die Gregarine einen Schwanz besäße. Dieser wurde bei der sich in keiner Weise ändernden gleich-

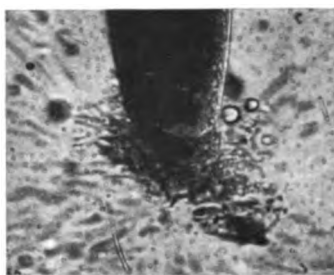
mäßigen Fortbewegung des Tieres nachgeschleift (Mikrophotographie Textfig. M). Eine Nachprüfung mit Tanninsäurelösung ergab keine weitere Fällung. Die Methylviolettprobe zeigte, daß der Schwanz aus Gallertmasse bestand. Auf der Mikrophotographie Textfig. N ist das Hinterende einer *Gregarina polymorpha* zu sehen. Hier war die gallertartige Masse als hyaline Kappe dem Hinterende aufgelagert und etwas erstarrt. Bei der Weiterbewegung waren aus der Umgebung Tuschekörperchen daran haften geblieben. Das Tier schleppte den Klumpen ohne aus der gleichmäßigen Bewegung herauszukommen hinter sich her.



Textfig. L.



Textfig. M.



Textfig. N.

Textfig. L. Hinterende von *Gregarina polymorpha* mit erstarrten Gallertfäden.

Nach dem lebenden Objekt. Vergr. 325.

Textfig. M. Mikrophotogramm. *Gregarina cuneata*, einen Schwanz aus erstarrter Gallertmasse am Hinterende.

Textfig. N. Mikrophotogramm. Hinterende von *Gregarina polymorpha*, an demselben ein Klumpen von Fremdkörpern.

Bei *Steinina ovalis* konnte ich folgendes beobachten: Nachdem das Tier sich einige Zeit gleitend fortbewegt hatte, stand es still, dann versuchte es vorwärts zu kommen, aber der erstarrte Gallertfaden hinderte es an der Weiterbewegung. Die Gregarine mühte sich fast zwei Stunden lang ab, ohne daß es ihr gelang, sich von dem Hindernis loszureißen. Ein Vorgang, den auch CRAWLEY schildert. Ferner konnte ich des öfteren auch eine CRAWLEY'sche Beobachtung für die Mehlwurmgregarinen bestätigen, die auch SCHELLACK 1907 an seinen Untersuchungsobjekten machte. Die Gallertmasse kann in der Spur sich auch in Gestalt unregelmäßiger in keiner Weise zusammenhängender Tropfen ansammeln. CRAWLEY zeigt diesen Vorgang in seiner Fig. 8.

Aus allen diesen Beobachtungen scheint mir folgendes hervorzugehen:

1. Die gallertartige Substanz zeigt ein außerordentlich wechselndes Verhalten.

2. Die Substanz löst sich, im Gegensatz zu der Behauptung SOKOLOW's, keineswegs immer in NaCl 1 Proz., sondern kann ebenso oft erstarren.

3. Ihre Löslichkeit nimmt keinesfalls mit erhöhter Temperatur zu.

4. komme ich gegen SOKOLOW auf Grund meiner mit den Beobachtungen von SCHEWIAKOFF, CRAWLEY und SCHELLACK übereinstimmenden Untersuchungen zu der Überzeugung, daß die Substanz in verschiedener Weise, wahrscheinlich nach ihrer verschiedenen chemischen Zusammensetzung, bald in Gestalt von Fäden, als Wolken, Tropfen usw. in der Spur erscheinen kann. Vielleicht könnte hier ein Zusammenhang bestehen mit der Verschiedenheit der Ernährung des Wirtstieres.

5. Die Gallertfäden können nach meinen Beobachtungen in Übereinstimmung mit denen von CRAWLEY und SCHELLAK das Tier an der Vorwärtsbewegung hindern, indem sie an Deckglas, Objektträger oder Gewebsresten des Wirtstieres festhaften.

6. Trotz Erstarren der Gallertmasse wird an der ruhigen Vorwärtsbewegung des Tieres nichts geändert. Höchstens nimmt man eine geringe Abnahme der Geschwindigkeit wahr.

Ferner gibt wohl ein Vorgang zu denken, über den SOKOLOW berichtet, und den auch ich in mehreren Fällen beobachten konnte, nämlich die Bewegung mit vorangehendem hinteren Körperende. SOKOLOW konnte weder Gestaltsveränderungen noch Myonemkontraktionen hierbei erkennen. Die Bewegung fand gleitend unter Abscheidung von Gallerte statt. Sie konnte 1—1½ Stunde andauern. Ferner beobachtete er, „wie ein und dieselbe Gregarine sich mit dem vorderen, später mit dem hinteren und dann wieder mit dem vorderen Körperende voranstehend fortbewegte. Solche Abwechslungen in der Bewegungsart sprechen meiner Ansicht nach sicher dafür, daß die Vorwärts- und Rückwärtsbewegungen als Erscheinungen derselben Art anzusehen sind.“

„Eine Vorbedingung hierfür,“ sagt SOKOLOW an einer anderen Stelle, „ist das vollständige Fehlen einer Aktivität seitens der Gregarine. Diese letztere Bedingung kann ihrerseits durch längeres Verweilen der *Stenophora juli* (mehrere Stunden) in 1proz. Kochsalzlösung erzielt werden (wie übrigens auch in 1, 5,2, 2,5, und 0,5proz. Kochsalzlösung).“

Diese Beobachtung SOKOLOW's kann ich für die Mehlwurmgregarinen nicht bestätigen. Ich untersuchte die Tiere ebenfalls in

den angegebenen Lösungen. Sehr oft waren Kontraktionen vor dem Absterben in diesen unzutraglichen Medien zu bemerken, so daß man meiner Überzeugung nach nicht mit voller Sicherheit auf ein Aufhören der aktiven Bewegung schließen darf. Außerdem sind wir nie sicher davor, daß uns nicht feine Kontraktionen, besonders der schwer festzustellenden Längsmyoneme entgehen.

Ich beobachtete Rückwärtsbewegung mit Abscheidung von Gallerte bei allen vier Formen des Mehlwurmdarmes. Die Substanz strömt dabei genau wie sonst in den Furchen entlang. Woher hat die Gallertmasse die Fähigkeit, einmal vor und ein andermal rückwärts zu fließen? Wie kommt es, daß sie bei Tieren wie *Gregarina cuneata*, die am Hinterende verdickt ist oder gar *Steinina ovalis*, deren Körper alle möglichen Formen haben kann, nach hinten oder nach vorn abfließt, also sozusagen bergan? Der Vorgang der Gallertabscheidung ist als Sekretion aufzufassen. Mithin ist die Gallerte selbst ein ergastisches totes Gebilde. Durch Überproduktion wird sie mit einer gewissen Geschwindigkeit durch die feinen Kapillaren, als die wir die Poren ansprechen dürfen, hinausgedrängt. An der Oberfläche angelangt, muß sie den Weg beschreiben, der ihr durch die Gestalt des Körpers vorgeschrieben ist, wie das bei jeder Sekretion zu beobachten ist. Hier aber sehen wir ein anderes Verhalten. Die Gallertmasse erhält nach meiner Überzeugung ihre Richtung durch eine andere Kraft. Diese haben wir ohne Zweifel in der Kontraktion feiner Myoneme zu suchen. Anders ist die Sache nicht denkbar. CRAWLEY gelang es, solche feinen Kontraktionen wahrzunehmen. SCHELLACK 1907 sagt: „Vielleicht äußert sich die beobachtete kontrahierende Tätigkeit der Myoneme in einer schnellen Wellenbewegung der Epicyststreifen.“ Ferner beobachtete er, daß Tuschekörnchen, die bei der Bewegung an die Epicyststreifen gerieten, sich rascher bewegten. Beide Beobachtungen kann ich aus meiner Erfahrung heraus für die Mehlwurmgregarinen bestätigen.

Niemand von den vorgenannten Autoren hat bis jetzt den Versuch gemacht, die Gregarinen in ihrer fortschreitenden Bewegung bei Dunkelfeldbeleuchtung zu beobachten. Und doch finden wir hier deutlich feine Bewegungen der Körperränder. Für mich steht es außer Frage, daß die fortschreitende Bewegung der Gregarinen in erster Linie auf Myonemkontraktionen zurückzuführen ist. Wozu haben die Tiere denn sonst ihr wohlausgebildetes Myocyt?

Warum entgehen uns nun jene Vorgänge so leicht? Ich glaube eine Erklärung hierfür zu haben. Feine Kontraktionen der Myoneme setzen anfänglich den Grund der Furchen zwischen den Epicyt-

streifen in wellenförmige Bewegung. Die Gallertmasse wird dadurch weiterbefördert und erst wenn die Bewegung ein klein wenig zunimmt, werden auch die etwas kompakteren und daher selbstverständlich weniger elastischen Epicytstreifen in Mitleidenschaft gezogen. Dann sind wir imstande, Wellenfiguren auf Schnitten nachzuweisen und am Tanzen der Körnchen oder bei Dunkelfeldbeleuchtung die Kontraktionen wahrzunehmen.

Die Ausscheidung der Gallertmasse ist also eine Folge der Bewegung. Sie kann dieselbe je nach ihrem Verhalten entweder durch Reaktion stützen und die Reibung des Gregarinenkörpers am dickflüssigen Darminhalt vermindern. Oder aber sie kann dem Tiere durch Erstarren zum Hindernis werden. Oder die Abscheidung der Gallerte kann so gering sein, daß sie bedeutungslos für die Fortbewegung wird. Dies ist der Fall bei der Abscheidung in einzelnen Tropfen (CRAWLEY). Meiner Überzeugung nach ist es ja gerade dieses verschiedene Verhalten, welches die Gallertmasse so bedeutungsvoll für die Gregarinen macht. Außer ihrer Anteilnahme an der Bewegung liefert sie (in Übereinstimmung mit CRAWLEY) ein Mittel zum Festhalten. Bei Formen ohne Epimeriten können wir dies am besten erkennen. Ferner dient sie sicher zur Verklebung der Syzygiten. Und bei der Encystierung liefert sie die Gallerthülle.

Ferner möchte ich noch auf Beobachtungen über den Einfluß der Temperatur auf die Bewegung der Gregarinen eingehen. SOKOLOW stellte seine Untersuchungen bei *Gregarina polymorpha* an. Er kam zu folgendem Ergebnis: Die maximale Geschwindigkeit der Bewegung wird bei 25—30 Grad erreicht. Längeres Verweilen bei einer Temperatur von 30—32 Grad übt eine verderbliche Wirkung auf die Gregarinen aus. Da die Mehlwurmgregarinen äußerst launische Versuchsobjekte sind, konnte ich manchmal stunden- ja tagelang vergeblich auf Bewegungserscheinungen warten. Ich versuchte daher sie zu Bewegungen zu zwingen, indem ich sie auf dem heizbaren Objektisch untersuchte, der von vornherein auf das von SOKOLOW angegebene Optimum eingestellt war, aber oft tagelang ohne Erfolg. Dies sonderbare Verhalten war nicht von der Jahreszeit abhängig. Ein anderes Mal gelang es mir eine Gregarine bei der optimalen Temperatur sofort in Bewegung zu setzen, andere Tiere aus dem gleichen Mehlwurmdarm verhielten sich vollkommen bewegungslos oder zeigten nur Kontraktionen. Und dies war bei der größten Anzahl der Fall. — Es war mir nicht möglich, mit jener Schärfe, wie es SOKOLOW behauptet, eine Abhängigkeit der Beweglichkeit (dies gilt besonders für *Gregarina polymorpha*) von der Temperatur

festzustellen, wohl konnte auch ich in Übereinstimmung mit Sokolow's Untersuchungen ein Maximum und ein Minimum für die vom Plasma der Gregarinen vertragene Temperatur feststellen — selbstverständlich die Punkte, bei deren Überschreiten Wärme- oder Kältestarre und der Tod eintreten. Dazwischen aber gelang es mir, innerhalb eines Temperaturintervalles von 15—28 Grad kein scharfes Optimum festzustellen. Die Tiere verhielten sich außerordentlich verschieden. Jene Beobachtungen habe ich lange Zeit fortgesetzt. Überall trat mir eine starke individuelle Verschiedenheit entgegen. Ich wurde an die Arbeiten von PAUL JENSEN 1896 und anderer Forscher erinnert, die sich mit individuellen physiologischen Unterschieden bei Protozoenzellen der gleichen Art beschäftigten. Am wenigsten scheinen mir junge Exemplare von *Steinina ovalis* und ebenso *Gregarina steini* in ihrer Gleitbewegung von der Temperatur abhängig zu sein.

Eine große Ähnlichkeit mit den Bewegungserscheinungen der Gregarinen zeigen diese Vorgänge bei den Sporozoiten und Merozoiten der Coccidien. Diese Bewegungen bestehen nach FRITZ SCHAUDINN (1900) aus einem Beugen und Strecken des Körpers. Nach EIMER (1870) erfolgt dies mit großer Unregelmäßigkeit. SCHAUDINN aber beobachtete den Vorgang folgendermaßen: „Das Zusammenkrümmen erfolgt stets sehr langsam und gleichmäßig; wenn der höchste Grad der Krümmung erreicht ist, tritt eine kleine Ruhepause ein, dann beginnt sofort die Streckung. Zunächst entfernen sich die Spitzen langsam voneinander, plötzlich bekommt der Organismus aber einen Ruck, und die Fäden schnellen lebhaft auseinander . . . diese ruckartige Streckung ist . . . ein wichtiges Hilfsmittel beim Eindringen in die Epithelzellen des Darmes.“ Hier liegt offenbar eine große Ähnlichkeit mit den ruckartigen Streckbewegungen des Gregarinenkörpers vor. Ferner schildert SCHAUDINN peristaltische Bewegungen der Sichelkeime, ähnlich wie bei Monocystideen. Seine Zeichnungen Fig. 1 a—1 d geben diese Vorgänge sehr deutlich wieder. Aber „ringförmig den Körper umgebende Elemente, wie sie bei den Gregarinen bekannt sind, lassen sich bei den Sporozoiten auch mit stärkster Vergrößerung, sowie nach Behandlung mit Goldchlorid nicht wahrnehmen.“ Ob sie fehlen, wagt er nicht zu entscheiden, weil die Untersuchungsobjekte zu klein sind. Bei den Krümmungen der Keime konnte er auf der Oberfläche derselben eine feine Längsstreifung bemerken. Er glaubte sie besonders deutlich am Hinterende der Keime zu sehen.

SIEDLECKI 1899 hat sie auch bei *Adelea ovata* gesehen. SCHAUDINN

führt die Längsstreifung auf eine Anordnung der oberflächlichen Plasmaalveolen in Längsreihen zurück. LÉGER 1898 beobachtete eine Längsstreifung bei *Echospora*. Er fand sie aber am deutlichsten am Vorderende des Tieres ausgeprägt. Er neigt zu der Ansicht sie als „Myonèmes rudimentaires“ zu betrachten. Ich selbst möchte hier die Vermutung aussprechen, daß wir ähnliche Elemente vor uns haben, wie sie als Längsmyoneme bei Selenidiumarten beschrieben worden sind. Hier sind sie auch nur an einem Körperpol zu beobachten.

Mit der Krümmungsbewegung wechselt regelmäßig eine gleitende Bewegung ab, die stets mit der Spitze voran in gerader Richtung langsam und stetig, ohne zu wackeln und zu rucken, vor sich geht. Dies gleichmäßige Vorwärtsschieben zeigt die größte Ähnlichkeit mit der fortschreitenden Bewegung der Gregarinen. SCHAUDINN führt sie auf die gleiche Ursache wie SCHEWIAKOFF zurück. Er stellte fest, daß „bei den Sporoziten ebenso wie bei den Gregarinen auf der ganzen Oberfläche des Körpers“ Gallerte ausgeschieden wird. Er stellte ihre klebrige Beschaffenheit, ihr starkes Quellenvermögen und ihr Erstarren fest. Er beschreibt das Festhaften kleiner Fremdkörper und das Losreißen, wie wir es bei den Gregarinen kennen. Die große Übereinstimmung zeigen Fig. 1e—g seiner Zeichnungen. Eine Zusammensetzung des abgeschiedenen Gallertzylinders aus einzelnen Fäden kann er nicht nachweisen. Ob ein Zusammenhang der Längsstreifung mit der Gallertbewegung hier besteht, vermag er nicht zu sagen. — Ich möchte aber doch wohl so einen Zusammenhang vermuten. Schon die starken Krümmungsbewegungen der Tiere lassen vielleicht einen Schluß auf schwer färbbare muskulöse Differenzierungen zu.

Über gleitende Vorwärtsbewegungen bei Sichelkeimen von *Eimeria avium* berichtet H. B. FANTHAM 1910. Ebenso FELIX REICH 1913 für das Kaninchencoccid *Eimeria stiedae*.

Auch unter den Protophyten finden wir bei verschiedenen Algengruppen Bewegungserscheinungen, die unter Abscheidung von Gallerte vor sich gehen. So untersuchte z. B. R. FECHNER 1915 die Bewegung der Oscillariaceen. Er wendet sich auf Grund sorgfältiger eigener Beobachtungen gegen die LAUTERBORN-SCHRÖDER'sche Theorie. Diese versuchte die eigenartige Bewegung dieser Algen zurückzuführen auf Gallertabscheidung am hinteren Ende. FECHNER gelang es nun eine Schleimabsonderung an beiden Enden des Algenfadens festzustellen. Seiner Auffassung nach liegt eine Quellungsrichtung des Schleimes vor, die von beiden Enden nach der Mitte geht, und der Faden muß sich daher mit dem Ende voranbewegen, an dem gerade



die stärkste Schleimabsonderung stattfindet. Seine Beobachtungen werden von NIENBURG 1916 bestätigt und die aufgestellte Theorie für gut mit den Tatsachen in Einklang stehend befunden. Für die Anhänger der von SCHEWIAKOFF und SOKOLOW für die fortschreitende Bewegung der Gregarinen gegebene Erklärung mag hier eine gewisse Ähnlichkeit in den Bewegungserscheinungen vorliegen.

Ich weise eine solche von der Hand. Da ich auf Grund meiner Beobachtungen in Übereinstimmung mit CRAWLEY und SCHELLACK der Gallertabscheidung, wenn überhaupt so doch nur eine recht untergeordnete Rolle zuerkenne. Auch die eigenartigen Bewegungen der Desmidiaceen werden nach der heute fast allgemein herrschenden Ansicht durch Schleimabsonderungen hervorgerufen (KLEBS 1885, OLTMANN 1904, MAX VERWORN 1915).

Am häufigsten finden wir in der Literatur den Versuch gemacht, die Bewegung der Diatomeen und Gregarinen auf die gleiche Ursache zurückzuführen. Eine oberflächliche Ähnlichkeit ist auch tatsächlich vorhanden. Diese mikroskopisch kleinen einzelligen Wesen, braune, schiffchen- oder stäbchenförmige Algen, die mit einer sehr zierlichen Kieselschale versehen sind, sieht man in der Richtung ihrer Längsachse manchmal langsamer oder schneller vor- oder rückwärts gleiten. Bewegungsorgane sind nicht sichtbar.

MAX SCHULTZE 1865 nahm an, daß durch die Raphe, ein Spalt, Protoplasma aus der Schale an die Oberfläche trete. Er vermutet, daß dieses Plasma in Gestalt von Geißeln die Fortbewegung hervorruft. Diese Theorie, die protoplasmatische, stand in Widerspruch zu der von seiten NÄGELI'S 1849 ausgesprochenen Ansicht, daß die Fortbewegung auf osmotische Vorgänge zurückzuführen sei.

PFITZER 1871 stellte sich auf den gleichen Standpunkt wie NÄGELI.

OTTO MÜLLER 1889, 93, 94, 96 a, 96 b, 97 liefert durch sorgfältige Arbeiten die anatomischen und mechanischen Grundlagen für eine Erklärung, die sehr viel Wahrscheinlichkeit für sich hat und heute nahezu allgemein anerkannt ist.

Der wesentlichste Teil der Raphe, die bei den Bewegungserscheinungen eine große Rolle spielt, ist nach MÜLLER ein auf beiden Schalenhälften von den sog. Endknoten nach dem Zentralknoten verlaufender Spalt. Die Endknoten zeigen einen komplizierten propellerartigen Bau. MÜLLER nimmt nun an, daß ein Strom lebenden Protoplasmas durch den Endknotenkanal mit Hilfe der Propellereinrichtung auf die Oberfläche tritt und hier nach dem Zentralknoten auf der Raphe entlang strömt, um durch den Zentral-

knotenkanal in das Zellinnere einzutreten. MÜLLER sprach nun die Meinung aus, daß die Bewegung durch die Reibung des Protoplasmas am angrenzenden Medium zustande komme. Für diese Auffassung kommt es nun gar nicht in Betracht, ob dieser Protoplaststrom am Wasser entlang gleitet oder ob er Gallerte, die bei den Diatomeen ebenfalls anzutreffen sind, in Bewegung setzt und diese auf das Wasser ihrerseits einwirken.

MÜLLER'S Theorie traf bei BÜTSCHLI und LAUTERBORN 1892, 96 auf Widerspruch. Diese Forscher glauben bei *Pinnularia* einen Gallertfaden beobachtet zu haben. Er schien aus der vorderen Zentralknotenöffnung nach rückwärts gestoßen zu werden. Sie nahmen an, daß er durch Rückstoß nach dem Gesetz der hydraulischen Reaktion (WERNER 1874) die Zelle vorwärts bewegte.

MÜLLER wies nach, daß der in Betracht kommende Faden aus Tuscheteilchen bestand. Außerdem stellte er rechnerisch fest, daß ein Gallertfaden eine 18,5 mal so große Geschwindigkeit wie die Diatomee aufweisen müsse, um die Zelle fortzubewegen. Für die Plasmaströme auf der Raphe ist aber nur eine 1,5 mal so große Geschwindigkeit notwendig.

1908 stimmt OTTO HEINZERLING zwar in vielen Punkten den MÜLLER'Schen Beobachtungen bei, hält aber seine Erklärung nicht für ausreichend. Er sagt unter anderem: „Bisweilen sind bei *Pinnularien*, die in der Schalenansicht beobachtet werden, die Strömungen der Zellbewegung gleichgerichtet, müssen ihr folglich entgegenwirken. Bei *Nitzschia* und *Navicula*-Arten werden häufig Tuschebröckchen oder andere Fremdkörper an der Raphe bzw. dem Kiel so verschoben, daß die Bewegung dieser Körper demjenigen der Zelle gleichgerichtet ist. Es fließen demnach die Strömungen nicht immer, wie es die Theorie erfordert, der Bewegungsrichtung entgegen. Allerdings entzieht sich in diesen Fällen die dem Beobachter abgewandte Raphe der genaueren Betrachtung. Es ist wohl möglich, daß hier die Strömungen die verlangte Richtung besitzen. Es müßte dann aber die Geschwindigkeit der Rapheströme auf der Unterseite eine relativ sehr große sein, weil noch die Gegenwirkung des oberen Stromes unschädlich zu machen wäre.“ Dies hält er aber für unnütze Vergeudung von Energie. Weiter bemerkt er: „In direktem Widerspruch mit der Stromtheorie steht es, daß ich eine Zelle von *Pinnularia nobilis* beobachtet habe, die sich längere Zeit in Gürtelbandlage bewegte, ohne daß in Tuscheemulsion irgendwelche Strömungen hervorgetreten wären. Wenn auf der Außenfläche der Zelle aber Plasma strömt, das durch Reibung an dem

umgebenden Medium Arbeit leistet, so muß es Tuschekörnchen, die in diesem Medium suspendiert sind, in Bewegung setzen.“

Diese Widersprüche gaben nun Veranlassung, nach anderen Bewegungsorganen alloplasmatischer Natur zu suchen. HEINZERLING färbte die Diatomeen nach LÖFFLER, um etwaige Geißeln sichtbar zu machen.

Er fand in zahlreichen Fällen auf der Außenseite der Membran feine Fäden, die in ein Knöpfchen endigten. An den Stellen, wo sie saßen, konnte er aber keine Poren nachweisen, die diesen Fäden zum Durchtritt durch die Membran hätten verhelfen können. Vielleicht liegen diese Poren nach seiner Meinung jenseits der Grenze der Sichtbarkeit. Andererseits war es ihm aber nicht möglich, die protoplasmatische Natur jener Fäden festzustellen. Auch HAUPTFLEISCH 1895 fand solche Fäden. Aber auch ihm gelang es nicht, ihre protoplasmatische Natur zu beweisen. HEINZERLING ist nun der Meinung, daß man trotz des Mißlingens dieser Versuche die Frage nach Bewegungsorganen nicht von der Hand weisen darf.

Aus all dem eben über die Diatomeen berichteten geht wohl klar hervor, daß die Bewegungserscheinungen derselben bei näherer Betrachtung wohl recht von denjenigen der Gregarinen abweichen. Die Ähnlichkeiten sind mehr negativer Natur. Die gallertartigen Ausscheidungen, die auch bei den Diatomeen beobachtet werden, haben nichts mit deren Bewegung zu tun. Die BÜTSCHLI-LAUTERBORN'sche Theorie, unter deren Eindruck entschieden die von SCHEWIAKOFF und auch von SOKOLOW gegebenen Erklärungen für die Gregarinenbewegung bis zu einem gewissen Grade stehen, ist für die Diatomeen von OTTO MÜLLER wohl ohne Zweifel klar genug widerlegt worden. Für die Gregarinen kommt sie auf Grund meiner Untersuchungen in Übereinstimmung mit CRAWLEY und SCHELLACK ebenfalls kaum in Betracht.

Für die Gregarinen sind noch niemals Bewegungsorganellen beschrieben. Wohl kennt man seit langer Zeit (STEIN 1848, HESSE 1910, DOGIEL 1906) Formen wie *Zygocystis cometa* STEIN und andere, deren Körper teilweise oder gar über und über mit Protoplasmafortsätzen bedeckt ist. Diese aber sind entweder zur Vergrößerung der resorbierenden Oberfläche, also zur Ernährung da oder dienen zur Anheftung am Wirtsepithel. Niemand würde in ihnen auch nur entfernt Bewegungsorganellen vermuten. Die komplizierten Myoneme erklären ja auch vieles an den Bewegungserscheinungen dieser Tiere ohne weiteres. Bei den Diatomeen liegen die Verhältnisse doch wohl ganz anders.

## B. Der Protomeritenkern.

Die Angaben über Mehrkernigkeit bei Gregarinen reichen zurück bis zum Jahre 1838. Hier liefert C. G. HAMMERSCHMIDT, der übrigens der Entdecker der Mehlwurmgregarinen ist, unter sieben Abbildungen von *Pyxinia rubecula* aus dem Darm der Larve von *Dermestes lardarius* vier Zeichnungen mit einem schwarzen Fleck im Proto- und Deutomerit. Er beschreibt aber das Vorkommen von zwei Kernen nicht näher. VON FRANTZIUS 1848 gibt eine Abbildung von *Gregarina Heerii* aus dem Darm von Phryganidenlarven und zeichnet in jedem Körperabschnitt einen Kern. Seiner Ansicht über dieses merkwürdige Vorkommen aber verleiht er keinen näheren Ausdruck. KÖLLIKER 1848 erwähnt in seiner Beschreibung derselben Art nur einen Kern. LEIDY berichtet in einer Abhandlung aus dem Jahre 1853 über mehrere neue Arten von Gregarinen. Darunter beschreibt er bei *Gregarina juli marginata* und *Gregarina polydesmi, virginiensis* zwei Kerne. Beide liegen nach seinem Befunde im Deutomeriten und sind von ungleicher Beschaffenheit. Die einen waren rund und hell, mit einer Anzahl Nucleolen, die anderen oval und dunkler. D'UDEKEM bildet 1856 eine *Monocystis magna* des Regenwurms mit zwei Kernen ab. KÖLLIKER gibt 1848 an, daß er in der von ihm entdeckten *Gregarina terebellae* mehrere Male zwei Kerne gefunden habe, beide im Deutomeriten liegend. Das gleiche beobachtete er bei *Gregarina sipunculi* in zwei Fällen. ANTON SCHNEIDER 1858 beschreibt bei *Greyarina holothuriae* das Vorhandensein zweier Kerne. Es macht den Eindruck, als habe er eine Cyste vor sich gehabt. AIMÉ SCHNEIDER 1875 hat bei *Porospora gigantea* in mehreren Fällen zwei Kerne gesehen. 1883 schildert ARNOLD BRASS in seiner Arbeit „die Organisation der tierischen Zelle“ in einem besonders der *Gregarina polymorpha* gewidmeten Abschnitte, wie der Körper der Tiere durch eine Scheidewand in zwei Teile geteilt sei. Auch der vordere Abschnitt ist seiner Auffassung nach eine wohlcharakterisierte Zelle, „denn wir bemerken innerhalb derselben einen deutlichen Kern“. Die hinzugefügten Zeichnungen geben in der Tat ein recht kernähnliches Gebilde wieder. 1891 äußert sich MAX WOLTERS: „R. PFEIFFER, Berlin, trat gelegentlich einer Demonstration im Hygienischen Institut für einen doppelten Kern bei Polycystideen ein, von denen der eine sogar im Protomeriten liegen sollte.“ WOLTERS selbst spricht nun von eigentümlichen Strukturen im Protomeriten. Er beobachtete sie gleichzeitig mit dem Auftreten von geflammten Kernen im Deutomeriten. „Diese Bildungen“, so

fährt er fort, „sind es wohl auch gewesen, welche R. PFEIFFER einen zweiten Kern im Protomeriten annehmen ließen.“ MARSHALL 1892 äußert sich über die Arbeit von ARNOLD BRASS und glaubt, daß dieser im Irrtum ist, indem er Ballen von Nährsubstanz, wie sie MARSHALL selbst bei *Clepsidrina blattarum* beschreibt, mit Kernen, denen sie manchmal sehr ähnlich seien, verwechselt habe. JAMES PORTER 1898 beschreibt zwei Kerne im Deutomeriten einer Polycystidee aus *Rhyncobolus americanus* und glaubt daraus sogar Teilung ableiten zu können. 1902 schildert ARTHUR BERNDT intracelluläre Jugendstadien von *Gregarina polymorpha*, bei denen bereits eine Trennung in zwei Körperabschnitte durch eine Scheidewand eingetreten schien. Zu beiden Seiten der Scheidewand glaubte er je einen Kern liegen zu sehen und vermutet, daß er diese Erscheinung auf Teilung eines Kernes im intracellulären Stadium zurückführen dürfte und nimmt einen Zusammenhang dieser Erscheinung mit dem Auftreten chromatischer Elemente im Protomeriten, freier Cephalonten und junger Sporonten an. 1904 berichtet MAX LÜHE, daß er im Protomeriten von *Stenophora* zahlreichen chromatischen Granulationen begegnet sei, die sich mit Kernfarben stark färbten. LOUIS LÉGER 1906 beschreibt *Gregarina socialis*, ein Tier, bei dem ständig im Protomeriten ein kernähnliches Gebilde zu finden ist. Er sagt folgendermaßen: „Dans cette espèce on voit outre le noyau toujours situé dans le deutomérite un corps nucléoïde constant, de taille beaucoup plus petite, situé dans le protomérite. Cette sorte de noyau protomérite se compose d'un petit grain chromatique central ordinairement sphérique, parfois comme étiré en fuseau, autour duquel se voit une sphère claire à contour nettement circulaire. Dans certains individus on peut même distinguer une mince paroi séparant la zone claire du cytoplasme granuleux ambiant.“ 1907 erscheint eine Arbeit von KUSCHAKEWITSCH, die Beobachtungen über degenerative Vorgänge bei den Mehlwurmgregarinen bringt. Er geht auf eine nähere Beschreibung jener kernähnlichen Gebilde ein und erwähnt ebenfalls die Arbeit von ARNOLD BRASS, dessen Beobachtung er für Irrtum hält. Er schildert diese Erscheinungen von einem anderen Gesichtspunkt aus und zwar folgendermaßen: „Nach meinen Beobachtungen sind jene chromatischen Gebilde in der Regel bei den jungen Cephalonten von *Gregarina polymorpha* vorhanden und bei Individuen derselben Art, die im Begriff sind, einen Epimeriten zu regenerieren. Ihre Form kann außerordentlich wechseln. Bald treten sie als unregelmäßige Klumpen auf, bald sind sie in die Länge ausgezogen und biskuitartig, als ob sie in

Teilung begriffen wären. Verhältnismäßig oft sieht man sie als rosenkranzförmige Gebilde die bogen- oder ringförmig gestaltet sind. Bis jetzt haben wir keine Kenntnis über die Herkunft und den Wert dieser chromatischen Gebilde.“ — Er schildert nun eine *Gregarina polymorpha* mit einem in Regeneration begriffenen Epimeriten. An der Scheidewand sind zwei chromatische Körperchen zu sehen, das eine von denselben bleibt noch jenseits des Septums und steht durch einen langen Faden mit dem geflammten Kern in Verbindung; das andere erscheint bereits im Protomeriten. Beide sind von einer Art Strahlung umgeben, und die Färbung läßt erkennen, daß sie beide von gleicher Beschaffenheit sind. KUSCHAKEWITSCH zählt diese Erscheinung den degenerativen Vorgängen zu und zwar aus folgenden Gründen: Er schildert am Anfang des erwähnten Abschnittes seiner Arbeit degenerative Vorgänge an dem Kern des Deutomeriten. Hierbei gibt der flammende Kern kleine, feine chromatische Körperchen ab, ein Vorgang, der nach der Auffassung des Autors allmählich zur Auflösung des Kerns führt. Er faßt nun jene im Protomeriten auftretenden färbbaren Gebilde als gleicher Abkunft mit jenen sich loslösenden Körnchen auf. Er ist der Auffassung, daß diese Gebilde wohl mit zur Verwechslung mit Kernen beigetragen haben. C. SCHELLACK 1907 beschreibt ebenfalls chromatoide Einschlüsse im Proto- und Deutomeriten von *Echinomera hispida* als nicht selten. MARTIN BOLDT 1910 findet ein Exemplar von *Rhabdocystis claviformis* aus *Octalasion complanatum* „das drei vollkommen ausgebildete Kerne aufweist, den ersten kurz hinter dem verdickten Vorderende an der gewöhnlichen Stelle, den zweiten etwa in der Mitte des Tieres und den dritten etwas kleineren weiter nach hinten“. — E. PEFFER 1910 findet in demselben Jahre zweikernige Jugendstadien bei den Mehlwurmgregarinen innerhalb der Wirtszelle und glaubt daraus eine Teilung der Jugendstadien ableiten zu dürfen. Ferner erwähnt die Arbeit das Auftreten von kernartigen Gebilden im Protomeriten. — HUGO MERTON beschreibt 1913 in dem Protomeriten von *Nina (Pterocephalus) indica* ein ständig in dem einen Zipfel auftretendes kleines kernartiges Gebilde. LÉGER und DUBOSCQ 1904 glauben darin den vegetativen Kern des Protomeriten vor sich zu haben. Auch in den Cysten ist er in beiden Sycygiten nachgewiesen worden. Er scheint aber in keiner Weise an den Kernteilungen, die die Gametenbildung einleiten, beteiligt zu sein.

Wenn wir die Angaben über mehrkernige Gregarinen aus der Literatur überblicken, so fällt uns überall eine große Unklarheit auf. Der eine glaubt im Protomeriten einen echten Kern zu

sehen, ein anderer sieht darin eine Verwechslung mit Ballen von Nährsubstanz, ein dritter hält die sich kernähnlich färbenden Gebilde für eine Art von Chromidien, die unter besonderen Umständen vom Hauptkern abgegeben werden.

Auf Schnitten durch den Darm der Mehlkäferlarve, gefärbt nach der Giemsa-Romanowsky-Methode, fand ich Gregarinen der verschiedensten Altersstufen, und ich glaube auf Grund eigener Befunde einiges zur Entwirrung jener Unklarheiten beitragen zu können.

Wie bereits bemerkt, gab ARTHUR BERNDT 1902 an, daß er intracelluläre Jugendstadien bei den Mehlwurmgregarinen gefunden habe. AIMÉ SCHNEIDER behauptete bereits 1875 von anderen Polycystideen dasselbe. LÉGER und DUBOSCQ 1904 halten dies für einen Irrtum, nachdem sie anfänglich der gleichen Meinung gewesen. Nach ihrer Annahme liegt hier eine Verwechslung mit schleimig degenerierenden Epithelzellen vor: „Boules homogènes ou vacuolaires, sphériques ou ovoïdes, isolées ou accolées et contenant soit des grains, soit des karyosomes, soit des pseudonoyaux, certaines de ces formes simulant tellement des sporozaires que les spécialistes les plus avisés s'y sont mépris.“ LÜHE 1904 schließt sich dieser Auffassung an.

1904 beschreibt FRANZ PAEHLER auch bei *Gregarina ovata*, daß die Entwicklung anfänglich völlig intracellulär verlaufe. CUÉNOT gibt 1901 dasselbe für *Gregarina blattarum* an. LÉGER und DUBOSCQ 1900 und 1901 stellten den Entwicklungsgang einer Reihe von Polycystideen fest und fanden, daß im Laufe desselben niemals ein völlig intracelluläres Stadium vorkäme. Ihre Untersuchungsobjekte waren: *Pyxinia moebusci*, *Pterocephalus nobilis*, *Gregarina munieri*, und *Gregarina accrediorum* und später 1904 die Gregarinen des Mehlwurmdarmes. Sie zogen daraus den Schluß, daß bei der typischen Entwicklung der Actinocephaliden kein intracelluläres Stadium vorkomme. Den ersten Gegenbeweis lieferte BERNDT 1902, den zweiten PAEHLER 1904. Ein neuer Gegenbeweis wird 1910 von E. PFEFFER gegeben. Auch hier zeigen die gerade für meine Untersuchungen besonders in Frage kommenden Gregarinen des Mehlwurmdarmes intracelluläre Stadien. Außerdem findet der Autor die von LÉGER und DUBOSCQ angegebenen Schleimballen und stellt durch sorgfältige Färbungen mit Thionin den Unterschied zwischen Gregarinen und Schleimballen fest. Außerdem gibt Autor an: „Ein weiteres Charakteristikum für diese intracellulären Parasitenstadien besteht darin, daß sie stets in einem — ich möchte sagen leergefressenen — Raum innerhalb der Wirtszelle liegen. Sie sind also nicht wie die Schleimballen allseitig dicht vom Cytoplasma umschlossen. Die erstere Be-

hauptung kann ich nach eigenen Befunden bestätigen, die letztere dagegen fand ich nicht bewahrheitet, denn die in Frage kommenden Schleimballen können ebenfalls in einem, um einen Ausdruck des ebenerwähnten Autors anzuwenden, „leergefressenen“ Raum liegen.

Auch ich selbst glaube einwandfrei die Jugendstadien unserer Mehlwurmgregarinen von den Überresten schleimig degenerierender Epithelzellen unterscheiden zu können.

Die bei meinen Präparaten in Anwendung gekommene Giemsa-Färbung gab mir ein ausgezeichnetes Kriterium an die Hand.

Die jungen Gregarinen zeigten ständig eine zarte Blaufärbung und wiesen in der Regel eine wabige, amöbenartige, zarte Plasmastruktur auf, während die Schleimballen stets eine graugelbe Färbung annahmen. Die in ihnen enthaltenen Reste von Chromatin erwiesen sich deutlich als solche, indem sie die gleiche Färbung mit dem Kern der Gregarinen annahmen.

In Fig. 5 meiner Zeichnungen sehen wir ein solches Jugendstadium. Die hypertrophierte Darmzelle ist nur in der Umgrenzung angedeutet. Das junge Tier zeigt eine feine protoplasmatische Struktur. Der Kern zeigt einen Chromatinnucleolus, die Kernsaftzone erscheint nach außen hin an einzelnen Stellen scharf umgrenzt.

Fig. 6 zeigt ein anderes Stadium. Das junge Tierchen ist von amöbenartiger Gestalt. Die Struktur des Protoplasmas ist deutlich zu erkennen. In einem hellen Hof, der Kernsaftzone, sehen wir zwei Chromatinbrocken. Sie sind dicht aneinander gelagert, feine Zacken zeigen sich an den einander zugekehrten Seiten. Es ist m. M. nach der in zwei Teile zerfallene Nucleolus. Ein ähnliches Stadium wird in der Arbeit von E. PFEFFER 1910 erwähnt und abgebildet. Der Autor glaubt hierin sogar eine Teilungsspindel zu erblicken und zieht daraus den Schluß, daß bei den Mehlwurmgregarinen gelegentlich eine Teilung der intracellulären Jugendstadien vorliegen könne, was gleichbedeutend mit Schizogonie wäre. Diese Behauptung würde die logische Schlußfolgerung verlangen, die Mehlwurmparasiten den Schizogregarinen einzuordnen, ihnen also im System eine vollkommen andere Stelle zuzuweisen. C. SCHELLACK 1907 und andere Forscher halten den Befund für nicht stichhaltig genug, um einen so tief eingreifenden Schluß daraus ziehen zu dürfen. Ich möchte mich diesem Urteil anschließen.

Fig. 7 zeigt ein anderes Jugendstadium, in dem bereits die beginnende Scheidung in zwei Körperabschnitte angedeutet scheint. In beiden Abschnitten sehen wir einen Chromatinbrocken liegen. — Aus der eben erwähnten Arbeit von E. PFEFFER 1910 wissen wir,



daß eine Scheidung im Proto- und Deutomeriten bereits während der intracellulären Periode eintreten kann. Ähnliches scheint mir aus der Arbeit von ARTHUR BERNDT 1902 hervorzugehen. Die von ihm in Fig. 50—52 dargestellten jungen Gregarinen zeigen ebenfalls diesen Vorgang. Nummer 3 meiner Zeichnungen zeigt wiederum deutlich die zarte protoplasmatische Struktur. Der Chromatinbrocken in der etwas größeren Körperhälfte hat glatte Ränder. In der anderen Körperhälfte erscheint er gezackt. BERNDT schildert den, diesem Stadium entsprechenden jungen Parasiten als zweikernig.

Da jeder Zelle ein Kern zukommt, muß bei meiner Zeichnung mindestens einer von beiden Chromatinpartikelchen das Karyosom eines echten Kernes sein. Da beide ein fast gleiches Aussehen haben, spreche ich beide, dem Beispiele ARTHUR BERNDT's folgend, als Kerne an.

Auch Fig. 8 und 9 meiner Zeichnungen geben zwei junge Tiere wieder, bei denen Proto- und Deutomerit bereits deutlich zu erkennen sind. Fig. 8 zeigt ein Stadium, in dessen größerem Körperabschnitt ein deutlicher Kern zu sehen ist. Um das massige, runde Karyosom legt sich eine deutliche Kernsaftzone herum.

In Fig. 9 erblicken wir einen ähnlichen Kern in dem weit kleineren Abschnitt des Körpers.

Für gewöhnlich scheint die Trennung in zwei Körperabschnitte erst auf demjenigen Stadium einzutreten, auf dem die jungen Parasiten mit der einen Körperhälfte im Darmepithel des Wirtes festsetzen.

Bei dieser Gelegenheit möchte ich erwähnen, daß auch mir Tiere begegnet sind, die im vollkommen ausgewachsenen freilebenden Zustande nur einen Kern im Protomeriten aufwiesen. Solche Fälle werden von LÉGER und DUBOSCQ 1904 als große Seltenheit angegeben. Der Grund zu dieser Eigenart ist wohl in Wanderungen des Zellkerns zu suchen, die während der vorher erwähnten Entwicklungsperiode stattfinden.

Ich glaube, daß das verschiedene Eintreten der Scheidung in Proto- und Deutomerit bei den verschiedenen Arten unserer Gregarinen wohl zu verschiedenen Zeiten auftreten dürfte.

Dies ist eine Frage, die noch der Lösung harret. Es ist ja bis heute noch nicht gelungen, einwandfreie Reinfektionen bei Mehlwürmern herzustellen. Dazu müßte man gregarinenfreie Mehlwürmer haben. Nur vom Eintritt des Puppenstadiums ab sind die Tiere gregarinenfrei und dann für Neuinfektion unempfindlich. Auch ARTHUR BERNDT 1902, der von Reininfektion in seiner Arbeit spricht, hat

eine solche nicht erhalten können. Und die Frage nach der Systematik der Mehlwurmgregarinen, besonders der frühesten Jugendstadien, ist vorläufig noch ungelöst.

Fig. 10 stellt eine Gregarine dar, in jener Periode, in der sich die Tiere mit einem Teil des Körpers im Wirtsepithel befinden, mit dem anderen außerhalb desselben.

Besonders deutlich werden diese Kernverhältnisse bei solchen Gregarinen, bei denen eine Differenzierung der Färbung der beiden Hauptkörperabschnitte eingetreten ist. Bei solchen Tieren zeigt der Protomerit eine Unmenge eosinophiler Körnchen, die dem ganzen Gebilde eine rötliche Färbung verleihen.

In Fig. 11 erblicken wir im vorderen Körperabschnitt einen Kern mit rundem Caryosom, die roten Körnchen haben sich an der Grenze des Außenkerns zu einem dichten Kranze angelagert.

Fig. 12 zeigt dies noch deutlicher. Das Caryosom hat eine etwas längliche Gestalt, ein zartes Liningertüst durchzieht die Kernsaftzone, an deren Außengrenze wir wiederum den roten Körnchensaum finden. Außerdem zeigen beide Kerne eine auffallende Ähnlichkeit. Dies Stadium ist außerdem noch von besonderem Interesse, denn das Protoplasma des Deutomeriten ist von eigentümlichen großen Vakuolen durchsetzt. Der noch vorhandene knopförmige Epimerit zeigt uns, daß wir eine *Gregarina polymorpha* vor uns haben.

Nummer 13 ist interessant durch den eigenartigen Epimeriten. Ich glaube ein ähnliches Stadium vor mir zu haben, wie es KUSCHAKEWITSCH 1907 als regeneriert schildert. Der Protomeritenkern zeigt ein eigenartiges langgestrecktes Caryosom. Der Hauptkern im Deutomeriten besitzt einen runden Binnenkörper, dem eine hellere Kappe aufliegt. Die Kernsaftzone ist von einem zarten, aber deutlichen Gerüst durchzogen.

Nummer 14 zeigt das Caryosom des Protomeritenkerns wieder etwas anders gestaltet. Der Deutomeritenkern ist auf dem Schnitt nicht völlig getroffen, sondern nur angeschnitten.

Nummer 15 ist eine *Gregarina cuneata*, wie uns der lange, vorn etwas abgebrochene Epimerit zeigt. Der Binnenkörper des Protomeritenkernes ist länglich. Die Kernmembran ist sehr deutlich ausgeprägt. Überhaupt ist die Ähnlichkeit beider Kerne eine sehr große.

Fig. 16 ist eine *Gregarina polymorpha*. Der für gewöhnlich knopförmige Epimerit ist etwas plattgedrückt. Der Protomeritenkern zeigt ein eigentümlich zackiges Caryosom.

Fig. 17, wahrscheinlich *Steinina ovalis*, zeigt uns in hohem Maße die Ähnlichkeit beider Kerne.

Fig. 18 ist ein Stück einer *Gregarina cuneata*. Um den runden Binnenkörper des Protomeritenkernes legt sich eine hellere sichelförmige Zone, wie wir sie in ähnlicher Form auch im Deutomeritenkern, Figur 9, gefunden haben. Eine eigenartige Vakuole, die sich an das Septum anlegt, möchte ich nicht unerwähnt lassen. Der Kern des Deutomeriten weist keine Besonderheiten auf.

Fig. 19 zeigt in jedem Körperabschnitt ein Gebilde, dessen Kernnatur wohl außer Frage stehen dürfte. Beide Caryosome zeigen netzförmige Struktur. Die Kernsaftzone ist beim Kern des Protomeriten sogar etwas deutlicher ausgeprägt als bei demjenigen des Deutomeriten. Die Kernmembranen sind klar zu erkennen.

Nur bei einer geringen Anzahl von Gregarinen fand ich Kerne im Protomeriten. Meine Auffassung über ihre Entstehung geht wohl bereits aus der Beschreibung von Fig. 2 und 3 meiner Zeichnungen hervor. Jener zweite Kern scheint mir das Ergebnis einer Teilung zu sein, die in seltenen Fällen aus uns unbekanntem Gründen am Kern früher Jugendstadien eintritt. ARTHUR BERNDT nimmt das gleiche an. Ich glaube, jene wenigen Fälle, in denen uns von mehreren echten Kernen bei Gregarinen berichtet wird, auf dieselbe Ursache zurückführen zu dürfen, mag es sich um mehrere Kerne in dem Körper der Monocystideen oder dem Deutomeriten der Polycystideen handeln, oder gar um einen Kern im Proto- und Deutomeriten.

Auch ich habe die von KUSCHAKEWITSCH 1907 beschriebenen Gebilde gesehen und glaube nicht, daß sie in irgendeiner Beziehung zu dem von mir geschilderten Vorgang stehen.

Jene von mir beschriebenen Stadien zeigen meiner Ansicht nach tatsächlich im Protomeriten einen wirklichen Kern und nicht nur ein kernartiges Gebilde. FRITZ SCHAUDINN sprach sich in einer vor langen Jahren (1904) stattgehabten Unterredung auf Grund eigener Befunde meinem Lehrer E. KORSCHOLT gegenüber in dem gleichen Sinne aus. Auch er war der Ansicht, daß gelegentlich ein echter Kern im Protomeriten auftreten könnte. Leider scheint SCHAUDINN darüber nichts veröffentlicht zu haben, denn ich konnte trotz sorgfältigen Suchens nirgends in seinen Abhandlungen eine Bemerkung darüber finden.

Nehmen wir das gelegentliche Auftreten eines echten Kernes im Protomeriten an, so müssen wir uns noch mit einer anderen Frage auseinandersetzen. Sind die Polycystideen mehrzellige Individuen, und welche Bedeutung kommt dem Protomeriten zu?

LOUIS LÉGER 1906 ist der erste, der jener Frage näher tritt und zwar gelegentlich seiner Studien an *Taeniocystis mira* LÉGER.

In dieser Arbeit gibt er auch eine kurze Beschreibung von *Gregarina socialis*, einem Parasiten aus dem Darm der Larve von *Eryx ater*. Dieses Tier hat außer dem Deutomeritenkern beständig im Protomeriten einen kernartigen Körper, wie ich bereits in der Literaturbesprechung erwähnte. LÉGER fragt sich nun, ob es sich hier in diesem Fall um einen wahren Kern oder einfach ein Trophochromidium von besonderer Form handelte. Eine Entscheidung fällt er nicht, weil er über die Entwicklungsgeschichte dieser interessanten Gregarinenform nichts aussagen kann.

Ebenso erwähnt er in einer Arbeit aus dem Jahre 1903 den später 1913 von HUGO MERTON ausführlicher beschriebenen Protomeritenkern von *Pterocephalus indica*.

LÉGER 1906 ist nicht der Ansicht, daß man den Protomeriten allein um der Gegenwart kernähnlicher Einschlüsse willen den Wert einer Zelle beilegen dürfte. Welche Bedeutung hat nun der Protomerit?, müssen wir uns fragen. Drei Gesichtspunkte sind es, nach denen wir hier vorgehen können.

Nach dem ersten würde man aus biomechanischen Gründen zwischen dem Deutomeriten, der frei im Darmlumen flottiert, und dem Epimeriten und Protomeriten, die in das Wirtsepithel hineingepreßt sind, eine Art von Gliederung annehmen. Bei den Polycystideen, bei denen wir ganz besonders häufig Darmparasiten antreffen, würde jene Gliederung ganz besonders vorteilhaft sein, ist doch der Darminhalt meist sehr dickflüssig. Die bei den peristaltischen Bewegungen vorwärts getriebenen Kotballen würden den Parasiten vom Wirtsepithel losreißen, wenn er nicht imstande wäre, durch eine besondere Anpassung an diese Verhältnisse, dem Hindernis geschickt auszuweichen. Dies wird ihm eben möglich durch die Kammerung seines Körpers.

Nach der alten theoretischen Zellenlehre würde dem Protomeriten der Wert einer Zelle zukommen, dergestalt, daß alle Gregarinen mit gekammerten Sporonten zweizellige Individuen wären. Die Protomeritenzelle würde sehr reduziert sein und in der bei weitem größeren Zahl der Fälle entweder gar keinen oder nur einen verschwindenden Rest (ich denke an die von KUSCHAKEWITSCH und anderen beschriebenen chromatischen Gebilde) von Kern besitzen, der vielleicht frühzeitig aufgelöst würde.

Gegen diese Annahme spricht meiner Überzeugung nach sehr stark der Umstand, daß wir nur sehr selten bei den intracellulären Jugendstadien auf einen zweiten Kern stoßen. Hier könnte man vielleicht an die roten Blutkörperchen der Säuger erinnern. Diese

dürfen wir allerdings als vollwertige Zellen ansehen; denn ihre Ontogenese zeigt uns stets und ständig, daß bei den Jugendstadien ein deutlicher Kern vorhanden ist, der im Laufe der Weiterentwicklung regelmäßig verloren geht. Eine solche Stütze können wir für die Auffassung des Protomeriten als vollwertige Zelle nicht aufweisen.

Eine dritte Möglichkeit wäre die, daß dem Protomeriten eine besondere Aufgabe bei der Ernährung zufiele, die sein Vorhandensein erklärt.

Hier können wir bei den Gregarinen außerordentlich interessante Beobachtungen machen. Protomerit und Deutomerit sind entschieden zwei ernährungsphysiologisch verschiedene Gebiete.

Der Protomerit stellt denjenigen Teil des Parasiten dar, der sich auf Kosten des Wirtsepithels durch Vermittlung des Epimeriten ernährt, während der Deutomerit dies auf Kosten der Darmflüssigkeit durch Osmose tut. In diesem Sinne spricht sich LÉGER 1906 aus. Das Septum würde also eine Grenze zwischen zwei Ernährungsgebieten bedeuten. Diese Annahme wird durch viele interessante Versuche gestützt. C. SCHELLACK 1912 beschreibt bei *Gregarina polymorpha* das Vorkommen von Volutin ausschließlich im Protomeriten. Dies wird auch von DOFLEIN 1916 erwähnt: „Das Entoplasma ist in der Regel sehr dicht, mit großen Granulationen erfüllt, von denen die Mehrzahl aus Paraglykogen (auch Zooamylum genannt), einer dem Glykogen nahestehenden Substanz, besteht. Das Paraglykogen ist meist im Deutomeriten angehäuft, fehlt meist im Protomerit. Bei manchen Formen findet sich in letzterem reichlich der Reservestoff Volutin.“ Auf Grund eigener Untersuchungen kann ich dies bestätigen. Der Name Paraglykogen wurde übrigens von BÜTSCHLI geprägt, der 1885 hierüber besondere Untersuchungen veröffentlichte. ARTHUR MEYER 1919 weist den Ausdruck „Paraglykogen“ als unzutreffend zurück. Er spricht die Vermutung aus, daß die in Frage kommenden Körnchen aus kristallisiertem Glykogen beständen. Er gibt ihnen den Namen „Gregarinenstärkekörner“. Auch ich fand sie in reichem Maße im Deutomeriten vor. SALVATORE COMES macht Ernährungsversuche bei Gregarinen. Seine Untersuchungsobjekte sind *Stenophora juli* und *Stylorhynchus longicollis*. Seine Präparate zeigen eine verschiedene Färbung zwischen Deuto- und Protomeriten, besonders nach Benda-Färbung. Danach färben sich die im Protomeriten enthaltenen Granula grün. Körnchen der gleichen Art sind im Deutomeriten nur in verschwindender Menge vorhanden. Ähnliches zeigt sich auch nach meinen eigenen Be-

obachtungen bei Färbungen mit GIEMSA-Lösung Fig. 20 u. 30. Der Protomerit zeigt sich des öfteren in reichem Maße mit eosinophilen Körnchen angefüllt, im Deutomeriten zeigen sie sich, wenn überhaupt vorhanden, nur in geringer Anzahl. Fig. 22 veranschaulicht die Unterschiede ganz besonders deutlich. Wir haben hier eine Methylenblau-Eosinfärbung vor uns. Der violette Deutomerit erscheint frei von Granulationen. Der Protomerit ist dicht angefüllt mit stark dunkel gefärbten Körnchen.

Ferner machte ich Versuche mit Vitalfärbung und zwar benutzte ich Bismarckbraun. Dabei färbte sich eine Menge von Granulationen im Protomeriten ganz dunkelbraun. Der Deutomerit färbte sich gelblich, und nur vereinzelt fanden sich braune Körnchen Fig. 21.

Bei Versuchen mit Neutralrot nahmen Proto- und Deutomerit ebenfalls oft verschiedene Färbungen an.

Bei Färbungen mit polychromem Methylenblau nach UNNA zeigte der Protomerit eine violette Färbung. Der Deutomerit war zart hellblau. Manche jener Unterschiede scheinen nicht beständig zu sein, sondern von dem jeweiligen ernährungsphysiologischen Zustande des Parasiten abzuhängen.

Der Protomerit wäre hiernach vielleicht als eine Art von Reservoir für Nahrungsstoffe aufzufassen.

---

### C. Zur Frage nach der Geschlechtsdifferenzierung.

Den Untersuchungen M. SIEDLECKI 1899 b über *Monocystis ascidiae* verdanken wir die ersten genaueren Kenntnisse über die Fortpflanzungsverhältnisse der Gregarinen, besonders der Vorgänge in der Cyste. Der Gedanke lag für SIEDLECKI nicht ganz fern, auch bei den zur Encystierung schreitenden Gregarinen nach sexuellen Unterschieden zu suchen. Er schildert das Ergebnis seiner Beobachtungen in folgenden Worten: „Die Conjugation beginnt in der Weise, daß zwei der Regel nach gleichgebaute Individuen sich nähern, sich gegenseitig mit den ausgestülpten Tastpseudopodien berühren und sich dann mit den Vorderenden seitlich in der Weise aneinanderschmiegen, daß die beiderseitigen Körperachsen zunächst noch einen Winkel bilden. Nur in äußerst seltenen Fällen waren die conjugierten Tiere ungleich groß, häufiger färbten sie sich dagegen ungleichmäßig. Doch war die Differenz immer sehr gering. Die Gleichheit der Tiere gilt als Regel und weist vielleicht auf eine Art Selektion hie.“ Er konnte also nennenswerte Unterschiede zwischen den beiden Syzygiten nicht feststellen.

In der Folgezeit aber gelang es bei einer ganzen Reihe von Gregarinen, sexuelle Unterschiede zu finden und zwar machte man merkwürdigerweise die

Beobachtung, daß oft Formen, bei denen ausgesprochene Anisogamie auftritt, in den freien Gregarinen keine Unterschiede aufweisen. Bei Tieren mit isogamer Entwicklung findet man sehr oft schon auf frühen Stadien ein verschiedenes Verhalten der zur Encystierung schreitenden Gamonten.

1903 berichten LÉGER et DUBOSCQ über sexuelle Differenzierung bei *Pteroccephalus nobilis*. Hier beobachteten sie ausgesprochene Anisogamie. Sie beschreiben eine „Grégarine mâle donnant des spermatozoïtes et la femelle donnant des œufs gros“. Hier sind nicht nur die Gameten verschieden, sondern auch bei den encystierten Elterntieren sind Differenzen vorhanden. Sie bestehen hauptsächlich in muskelartigen Differenzierungen unter der Anlagerungsstelle des Männchens an das Weibchen. „En dedans de la surface d'accolement se distingue une plage d'une épaisseur de 3 à 5  $\mu$ , formée d'éléments acidophiles homogènes, qui donnent l'image d'un champ musculaire coupe transversalement. Cette plage musculoïde n'existe pas chez la femelle.“

1904 kann LÉGER bei *Stylorhynchus*, Formen mit wohlausgeprägter Anisogamie, bei den Syzygiten keinerlei Differenzierungen finden. Solche zeigen sich erst bei Beginn der Gametenbildung. Von *Gregarina munieri* dagegen berichtet er: „J'ai observé une différence très nette entre les deux individus du couple. Le protomérite du primite est fortement coloré en jaune et renferme très peu de granulations, tandis que celui du satellite très fortement granuleux est peu ou point coloré. La même différence existe, mais moins prononcée entre les deutomérites des deux conjoints.“

Im selben Jahre bringt die Arbeit von LÉGER et DUBOSCQ Beobachtungen über verschiedene *Stenophora*-Arten. Hier lassen sich mit großer Deutlichkeit zweierlei Formen unterscheiden und zwar kugelige und längliche. Bei *Stenophora juli* ist bei den länglichen Formen das Epicyt des Protomeriten sehr stark. Sein Entoplasma schließt eine große Menge unanfärbbarer Körner ein. Der Deutomerit dagegen färbt sich sehr stark und zeigt feine Körnelung. Bei den kugeligen Formen beschreiben die Autoren feine Granulationen im Protomeriten. Protomerit und Deutomerit färben sich hier gleich stark.

L. BRASIL sprach 1904 für *Urospora lagidis* die Vermutung aus, daß die zur Encystierung schreitenden Individuen sicher geschlechtlich differenziert seien. 1905a zieht er für *Urospora* und *Gonospora* den gleichen Schluß aus Differenzierungen beider Tiere, die allerdings erst bei der Bildung der Gametenkerne auftreten. Hier fand er: „Une des Grégarines est toujours en avance sur l'autre d'une ou plusieurs divisions nucléaires.“ Außerdem berichtet er: Le cytoplasme apporte aussi sa contribution à différenciation des deux syzygites.“ Plus colorable chez l'individu à petits noyaux il semble devoir cette propriété à la fois à la dimension moindre des mailles du réseau qui le constitue et à une affinité plus grande de ses éléments pour les substances tinctoriales. Die Gameten dieser Form sind ebenfalls differenziert, wenn auch nicht in hohem Grade.

1905b untersucht derselbe Forscher *Monocystis lumbrici*, *Monocystis pilosa*, *Monocystis magna* und *Monocystis porrecta*, alle vier Formen aus *Lumbricus herculeus*. Nach seinen Beobachtungen weist das Plasma der encystierten Tiere auch nicht die geringste Verschiedenheit auf, und doch finden wir hier schwach ausgeprägte Anisogamie.

SHELLACK 1907 fand bei den ausgewachsenen Formen von *Echinomera hispida*, die ihr Epimerit resorbiert hatten, schon Unterschiede in der äußeren Form. Er schildert ovoïde Gregarinen, bei denen der Durchmesser durch die Körpermitte

etwa ein Drittel der ganzen Körperlänge betrug. Die anderen waren viel langgestreckter. Also ähnlich wie LÉGER bei *Stenophora varians* vermutet. Ferner stellte SCHELLACK in der Cyste eine stärkere Färbbarkeit bei der männlichen Gregarine fest, die mit dem Alter der Cyste zunahm. Nennenswerte Unterschiede in Struktur und Reservestoffeinschlüssen fand er nicht. Vom Beginn der Kernteilungen an waren die Tiere auch noch ständig an ihrer eigenartigen Lagerung zueinander zu erkennen. Das Weibchen nimmt stets birnenförmige Gestalt an, und das Männchen bildet allmählich eine dem weiblichen Gamonten aufgelagerte Kalotte.

1907 finden LÉGER et DUBOSCQ bei *Frenzelina eberthi* ein sehr frühes Zusammentreten zweier Individuen zur Syzygie. Von dem Augenblick der gegenseitigen Berührung ab, beginnen die Tiere zu wachsen. Der Perimit wird größer als der Satellit. Die Verfasser glauben hierin eine geschlechtliche Differenzierung erblicken zu dürfen.

1908 unterscheiden dieselben Forscher bei *Aggregata eberthi* „de petites Grégarines à membrane épaisse, qui sont peut-être les mâles, et de grandes Grégarines à membrane mince, les femelles.“ Außerdem ist das Protoplasma der männlichen Tiere von feinerer Struktur und stärker färbbar zum Unterschiede der weiblichen Tiere.

Im Jahre 1909 erschien die wichtige Arbeit von LÉGER et DUBOSCQ über die Sexualität der Gregarinen. Sie stellen bei *Stomatophora coronata* HESSE aus *Pheretima* Anisogamie fest, und zwar ist sie nach ihren Beobachtungen noch stärker ausgeprägt als sie BRASIL für *Monocystis* fand. Außerdem bemerkten sie einen Unterschied in der Färbbarkeit der beiden Syzygiten. Für *Nina gracilis* bestätigen sie noch einmal die früher von ihnen 1902 und 1903 gemachten Beobachtungen, daß bei dieser Gregarine die Anisogamie so deutlich ausgeprägt ist, daß man in allen Entwicklungsstadien in der Cyste Männchen und Weibchen unterscheiden kann. Ferner machten sie eine interessante Beobachtung an Präparaten, die nach der MALLORY-Methode gefärbt waren. Junge, am Epithel haftende Cephalonten zeigten einen blauen Protomeriten, während der Deutomerit rot violette Färbung annimmt. Nach Erreichung einer gewissen Größe, vom Sporontenstadium ab, sind beide Körperabschnitte blau gefärbt. Die Autoren glauben hieraus auf das Eintreten einer Art Geschlechtsreife schließen zu dürfen. Verschiedenheiten in der äußeren Gestalt der sich encystierenden Tiere glauben sie nicht als sexueller Natur ansprechen zu dürfen, da sie nicht konstant sind. Während in der Cyste die Plasmaalveolen des Männchens unregelmäßig und klein gestaltet sind, erscheinen sie bei dem weiblichen Tier sehr regelmäßig und weit größer. Auch in den Granulationen, die im Plasma enthalten sind, und die sich nach MALLORY blau färben, konnten sie Differenzen in beiden Geschlechtern finden. Bei *Hoplorhynchus oligacanthus*, eine Aktinocephalide, stellen sie nach Eintritt des Perlenstadiums fest, daß das Cytoplasma des männlichen Tieres feinmaschiger und stärker färbbar als dasjenige des Weibchens ist.

Aus der Gruppe der *Clepsidrin*en untersuchten LÉGER et DUBOSCQ die geschlechtlichen Vorgänge näher bei *Gregarina Munieri*, aus dem Darm von *Timaroha tenebrosa*, ferner *Gregarina blattarum*, *Gregarina acridiorum* und *Gregarina polymorpha*. Sie fanden bei diesen Formen eine große Übereinstimmung in den geschlechtlichen Verhältnissen. Die ersten Differenzierungen machen sich bei den encystierten Tieren bemerkbar und zwar dadurch, daß der Prozeß der Gametenbildung nicht gleichzeitig beginnt. Bei dem „männlichen“ Tier verlaufen die



Kernteilungen, früher beginnend, schneller. Ferner stellen sie schwach ausgeprägte Anisogamie fest. Bei *Gregarina polymorpha* fanden sie auf Totalpräparaten nach HEIDENHAIN eine Differenzierung der Färbung in der Cyste. Das eine Individuum färbte sich dunkler als das andere.

Für *Frenzelina acellata*, *Frenzelina chthamali*, *Frenzelina fossor* und *Frenzelina conformis* beschreiben sie Unterschiede in der Größe der beiden Syzygiten. Cytologisch dagegen konnten sie keine Differenzen feststellen.

SWARCZEWSKI 1910 macht Beobachtungen über *Lankesteria sp.* Er konnte außer einigen Zeitunterschieden bei der Gametenbildung in den einzelnen Tieren keine wesentlichen Differenzierungen bemerken.

HUGO MERTON 1913 bestätigt viele der Beobachtungen, die LÉGER et DUBOSCQ an anderen *Nina*-Arten gemacht haben auch für die von ihm entdeckte *Nina indica*. Außerdem aber findet er deutliche Unterschiede bei den freilebenden Darmgregarinen. Er unterscheidet Formen mit grobem Plasma und groben Körnchen von solchen mit feinmaschigem Plasma, das viele feine Körnchen enthält. Also ganz ähnlich wie LÉGER et DUBOSCQ für die in der Cyste eingeschlossenen Tiere von *Nina gracilis* angeben. Das wesentlichste scheint MERTON die Struktur des Protoplasmas zu sein, während nach seinen Beobachtungen Größe und Färbbarkeit der Körnchen Schwankungen unterworfen sind. Bei den männlichen Syzygiten fand er an der Berührungsfläche mit dem weiblichen Tier stark färbbare Lamellen. Sie waren aber bei *Nina indica* nicht so regelmäßig ausgebildet wie bei *Nina gracilis*.

OLGA SCHIFFMANN 1919 untersuchte die Fortpflanzung bei *Gregarina cuneata* und *Gregarina blattarum*. Sie beobachtete, daß die Vorgänge in der Cyste sich bei beiden Tieren nicht gleichzeitig abspielten. Den von LÉGER et DUBOSCQ festgestellten Unterschied bei den Gameten konnte sie nicht finden.

Ich untersuchte nun die Gregarinen des Mehlwurmdarmes auf sexuelle Differenzierungen hin bis zur Cystenbildung. Manche Beobachtungen früherer Autoren konnte ich nach eigener Anschauung bestätigen.

BÜTSCHLI war schon 1881 der Ansicht, daß das eigenartige Zusammentreten zweier Gregarinenindividuen zur Syzygie die Einleitung zu den geschlechtlichen Vorgängen sei. Es wurden zwar Beobachtungen gemacht, die dem zu widersprechen schienen. Man fand ganze Ketten von Gregarinenindividuen, oder aber man beobachtete solitäre Encystierung. Heute aber, nachdem man seit SIEDLECKI 1899b die Fortpflanzungsverhältnisse bei einer großen Anzahl von Gregarinen genauer studiert hat, und seit man weiß, daß bei vielen Gregarinen eine Encystierung von mehr als zwei Individuen oder aber Einzeltieren zu keinem Ergebnis führt, schließt man sich wohl allgemein der Ansicht BÜTSCHLI'S an.

Bei den Gregarinen des Mehlwurmdarmes treten nun zwei meist gleich große Tiere zur Syzygie zusammen. Selten findet man Differenzen in der Körpergröße beider. So beobachtete ich in einigen Fällen bei *Gregarina polymorpha* Syzygien, bei denen der Primit nur

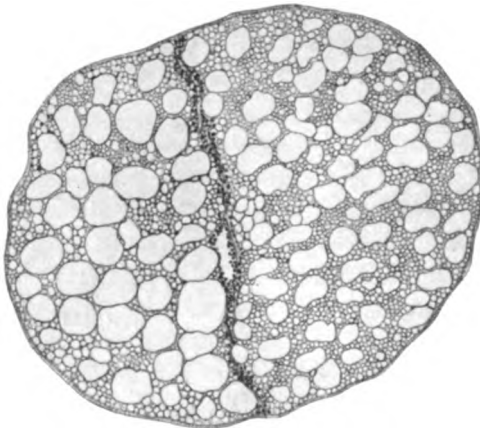
ungefähr ein Viertel des Volumens des Satelliten aufwies oder umgekehrt. Ferner kann man des öfteren sehen, daß mehrere Tiere dem Hinterende des Primiten anhaften, Beobachtungen, die auch BERNDT 1902 und E. PFEFFER 1910 machten. Solche Abnormitäten führen zu keiner regelrechten Weiterentwicklung. Dasselbe sagen BERNDT 1902 und LÉGER et DUBOSCQ 1909. Auch für andere Gregarinen ist dies verschiedentlich angegeben worden.

Eine Übereinstimmung in der Körpergröße haben wir also als das normale anzusehen.

Bei *Gregarina polymorpha* finden wir bei oberflächlicher Betrachtung auch in der Form beider Syzygiten kaum einen Unterschied. Bei *Gregarina cuneata* dagegen sind solche vorhanden. Sie können so stark sein, daß AIMÉ SCHNEIDER 1875 irrtümlich behauptete: „On trouve à chaque instant dans le tube digestif de la larve du *Tenebrio* des couples dont le primate appartient à l'espèce *Cuneata* et le satellite à la *Polymorpha*.“ Schon BERNDT 1902 klärte diesen Irrtum auf. Er konnte beobachten, daß die Einzeltiere auch bei *Gregarina cuneata* gleich gebaut waren. Jene Differenzierungen, die SCHNEIDER 1875 beobachtete, stellen sich erst allmählich bei dem Zusammentreten zur Syzygie ein. Der Protomerit der freien Form von *Gregarina cuneata* zeigt bekanntlich eine halsartige Einschnürung. Bei Bildung der Syzygie wird der Satellit plumper. Die eben erwähnte halsartige Einschnürung geht verloren. Auch bei *Gregarina steini* fand ich die jungen freilebenden Stadien ziemlich gleich gestaltet. Primit und Satellit weisen aber meist kleine Differenzen in der Körperform auf. Der Protomerit des Primiten ist größer als der des Satelliten, außerdem zeigt ersterer ständig eine leichte, oft kaum wahrnehmbare Krümmung nach der einen Seite.

Bei stärkerer Vergrößerung finden wir bei allen drei eben erwähnten Arten eine manchmal mehr oder weniger ausgeprägte Differenzierung des Protoplasmas. Beim Primiten ist dasselbe etwas gröber als beim Satelliten. Diese Unterschiede lassen sich in vielen Fällen mit großer Deutlichkeit bis in die Cyste hinein verfolgen. Solche Differenzierungen zeigt uns mit voller Klarheit ein Schnitt durch eine Cyste von *Gregarina polymorpha* (Textfig. O). Färbung nach HEIDENHAIN. Wie die übrigen Schnitte der Serie mich belehrten, war der Kern in beiden Tieren noch vollkommen intakt, also konnte die Encystierung erst vor kurzer Zeit erfolgt sein. Das Protoplasma des linken Tieres zeigt auf den ersten Blick weit größere Alveolen, eingebettet in eine feiner strukturierte Grundmasse. Das Tier rechts ist weit feinmaschiger gebaut. Dies zeigen

sowohl die Hauptalveolen als auch die Grundmasse. Auf die Unterschiede in Größe und Anzahl der Körnchen, die anscheinend hier vorhanden, möchte ich keinen Wert legen, da sie keineswegs konstant sind. Ähnlich spricht sich ja auch HUGO MERTON 1913 über *Nina indica* aus. Interessant ist noch an Textfig. O eine Anhäufung



Textfig. O. Schnitt durch die Cyste.  
HEIDENHAIN-Säurefuchsin-Färbung, deutliche  
Differenzen im Bau des Plasmas bei beiden Tieren  
zeigend. Vergr. 650.

von stark färbaren Granula an der Scheidewand. Beide Tiere scheinen in gleich starkem Maße an dem Zustandekommen dieser eigenartigen Erscheinung beteiligt zu sein. Ob sich hierin wohl Vorgänge, vielleicht reizphysiologischer Art, bemerkbar machen, die die Bildung der Gameten auslösen?

LÉGER et DUBOSCQ fanden 1909 auf Totalpräparaten, die nach HEIDENHAIN gefärbt waren, eine Differenzierung in der Färbung in der Cyste. Das eine Tier erwies sich als stärker färbbar als das andere. Sie vermuteten, daß wohl Differenzierungen im Bau des Plasmas die Schuld daran trügen. Es ist wohl als selbstverständlich anzusehen, daß das feiner strukturierte Tier die Farbe stärker aufnimmt. Auch bei Vitalfärbungen mit Neutralrot fand ich stets bei allen Mehlwurmgregarinen eine starke Verschiedenheit in der Färbbarkeit beider Cystentiere. Dies zeigen deutlich Fig. 25 u. 26

Wie steht es nun mit der Färbbarkeit der freien Cephalonten und Syzygiten?  
Bei vitaler Färbung mit Neutralrot konnte ich bei *Gregarina polymorpha* beständig mehr oder weniger deutliche Unterschiede feststellen. Ich fand bei Einzeltieren sowohl wie bei den Syzygien manchmal zweierlei deutlich unterschiedene Formen. Die feiner strukturierten Tiere zeigten gleichmäßig dunklere Färbung, und am vordersten Ende des Protomeriten fand sich häufig eine ganz besonders stark färbbare Zone. Solche Individuen konnte ich oft als Satelliten wiederfinden. Andere Exemplare mit grobem Plasma zeigten eine schwächere Affinität zur Farbe. Der Protomerit war heller gefärbt als der Deutomerit. In der Syzygie stellten sie den

Primiten dar. Zufällig sind auf den Fig. 23 u. 24, die diese Differenzen für einen besonders deutlichen Fall veranschaulichen, auch Unterschiede in den Granula vorhanden. Die eben geschilderten Differenzen erinnern lebhaft an die Verhältnisse, wie sie LÉGER et DUBOSCQ 1904 für *Stenophora*-Arten angeben. Nur liegt hier der Fall gerade umgekehrt. Die feinmaschigen, männlichen Tiere zeigen einen stets hell bleibenden Protomeriten, während bei den mehr rundlichen weiblichen Formen mit grober Plasmastruktur beide Teile des Körpers gleichmäßig hell gefärbt erscheinen. Überraschend ist die Wirkung des Neutralrots auf *Gregarina cuneata*. Neutralrot ist bekanntlich ein außerordentlich empfindlicher Farbstoff, der geradezu als Indikator Verwendung finden kann. In neutraler Lösung zeigt er eine rote Farbe, die einen Stich ins Violett aufweist. Schon recht verdünnte organische Säuren lassen den Farbton in Fuchsinrot umschlagen. In Alkalien zeigt er sich gelbbraun. Schon die schwache Alkaleszenz des Brunnenwassers löst bereits eine deutliche Reaktion aus.

Bei Beginn der Vitalfärbung werden nun zuerst im Körper enthaltene Granulationen tingiert.

Nach OVERTON 1900 beruhen die eigentümlichen osmotischen Eigenschaften der lebenden Zellen auf einer Erscheinung der auswählenden Löslichkeit. Seiner Ansicht nach ist nun die Eigenschaft der lebendigen Zelle, sich mit basischen Anilinfarben zu färben, auf eine Imprägnierung der Grenzschicht des Plasmas mit Cholesterinen und Lecithinen zurückzuführen. Diese Stoffe erweisen sich als mit höchster Lösungsaffinität zu den eben erwähnten Farbstoffen ausgestattet. Speichert die Zelle nun an verschiedenen Stellen den Farbstoff nicht in gleichem Maße, so besitzen diese betreffenden Zellbestandteile eben ein mehr oder weniger gutes Lösungsvermögen für den Farbstoff. Da die Granula sich anfänglich ausschließlich mit Neutralrot färben, möchte ich im Sinne OVERTON'S 1900 und HÖBER'S 1901 und 1911 sie als aus Substanzen bestehend ansehen, welche für Neutralrot „ein ganz brillantes Lösungsmittel“ darstellen.

Nun fand ich bei vital gefärbten Syzygien von *Gregarina cuneata* eine eigentümliche Differenzierung. Die Granula im Körper des einen Tieres zeigten einen gelben oder orangefarbenen Ton, die des anderen waren violett Fig. 27. Bei Veränderung der Beleuchtungsverhältnisse blieb die Erscheinung erhalten. Also halte ich eine optische Täuschung für ausgeschlossen. Die Reaktion der Granula in beiden Gregarinen war tatsächlich verschieden. Meist beobachtete ich beim Primiten eine gelbliche Färbung, der Satellit war

violett Fig. 27. Aber auch der umgekehrte Fall kam mir zu Gesicht. Es machte einen eigentümlichen Eindruck, die auffallend verschieden gefärbten Tiere ruhig in der Lösung dahingleiten zu sehen. Da Vitalfärbungsversuche bei Gregarinen kaum angewandt sind, hat bis jetzt auch noch niemand diese Beobachtung bei *Gregarina cuneata* gemacht, denn nur bei dieser Form fand ich jene auffallende Differenzierung zwischen beiden Syzygiten. Ich nehme an, daß uns das Verhalten des Neutralrots hier einen Einblick in die noch recht dunklen, ja so gut wie unbekanntem ernährungsphysiologischen Vorgänge gestattet. Die Natur dieser sich so eigenartig verhaltenden Granulationen ist fast unbekannt. Heute neigt man dazu, sie als Stoffwechselprodukte anzusehen (HARTMANN 1917). Dafür spricht ihr Auftauchen und Verschwinden je nach Abänderung der Ernährungsverhältnisse. Über die chemische Natur jener Granulationen wissen wir nichts Positives. Hier öffnet sich der physiologisch-chemischen Forschung ein großes Arbeitsfeld.

Wir müssen nun wohl auch bei den ernährungsphysiologischen Vorgängen bei Gregarinen die Tätigkeit von Enzymen annehmen. Darunter verstehen wir gelöste Fermente, welche die Eigentümlichkeit haben, gewisse chemische Umsetzungen herbeizuführen, ohne selbst dabei verbraucht zu werden. Über die eigentliche Natur dieser Körper können wir nur Vermutungen aussprechen. Sie werden für komplizierte stickstoffhaltige Eiweißkörper angesehen. In neuester Zeit neigt man zu der Ansicht, daß sie zur Gruppe der Nucleoproteide gehören. Zu diesen Stoffen gehören das Pepsin, das in saurer Lösung Eiweiß verdaut. Das Trypsin ist imstande in alkalischer Lösung unlösliche Kohlehydrate, z. B. Stärke, in lösliche Form überzuführen.

Den chemischen Umsetzungsvorgängen bei der intracellulären Verdauung versuchte man verschiedentlich unter Zuhilfenahme von Neutralrot auf den Grund zu gehen. Mit diesem Farbstoff gelang es NIRENSTEIN 1905 und KHAINSKY 1911 nachzuweisen, daß in den kontraktilen Vakuolen bei *Paramecium* anfangs eine Mineralsäure abgeschieden wird. Später geht nach NIRENSTEIN die Reaktion in eine alkalische über, was KHAINSKY 1911 nicht bestätigen konnte. METALNIKOFF zieht aus Beobachtungen an *Bacterium coli* den Schluß, daß die saure oder alkalische Reaktion von der Art der Nahrung abhängt.

Auch einige der hier wirksamen Fermente fand man. KRUKENBERG 1878 zog mit Glycerin aus Myxomycetenplasmodien einen Extrakt aus, der Eiweiß in saurer Reaktion verdaute. MOUTON gelang es aus Amöben eine Substanz zu gewinnen, die bei schwach

alkalischer oder neutraler Reaktion auf Gelatine und Fibrine wirkte. MESNIL fand bei *Paramaecium* und GLAESSNER bei *Balantidium coli* ein eiweißverdauendes, proteolytisches Ferment. Für die *Phagocyten* nimmt METALNIKOFF der unendlichen Variierung der Nahrung halber auch eine entsprechende Anzahl von Fermenten an. MOUTON glaubt für die Infusorien zwei Fermente annehmen zu dürfen entsprechend der sauren und alkalischen Reaktion der Nahrungsvakuolen. Das würde ähnlich sein, wie bei den höheren Tieren, wo wir Trypsin und Pepsin finden. Die Ähnlichkeit wird noch besonders groß dadurch, daß wir auch bei den Infusorien und Amöben eine Stärke- sowohl wie Eiweißverdauung vorfinden.

Bei den Gregarinen liegt die Sache weit schwieriger. Hier haben wir keine Nahrungsvakuolen, sondern die Vorgänge spielen sich, der saprosmischen Ernährungsweise halber, an der ganzen Zelle ab. Wir pflegen dem Protoplasma auswählende Eigenschaften zuzuschreiben. Welche Stoffe diese Tiere nun dem Darmsaft ihres Wirtes entziehen, wissen wir nicht. Außerdem steht den Gregarinen als Entoparasiten kein freier Sauerstoff zur Verfügung. Bei solchen anoxybiontischen Protozoen werden nun Stoffwechselprozesse besonderer Art angenommen, durch welche die für ihre Lebensfunktionen nötige Energie beschafft wird. Die Gregarinen speichern in ihrem Körper Reservesubstanzen, z. B. Glykogen, die auf solche Prozesse schließen lassen, dies geschieht wohl mit einigem Recht, denn bei ähnlichlebenden parasitischen Metazoen wird Energie durch Spaltung der gleichen Reservesubstanz gewonnen. WEINLAND 1900 fand z. B. für Ascariden, daß sie Glykogen unter Bildung von Valeriansäure und  $\text{CO}_2$  spalten. Er nennt solche Prozesse „tierische Gärung“. Für Gregarinen und Infusorien werden ähnliche Vorgänge vermutet (DOFLEIN 1916). Der Nachweis von Glykogen im Gregarinenkörper durch A. MEYER 1919 scheint mir jene Vermutungen zu stützen.

Es gelang mir nun zwar niemals einen Wechsel in der Reaktion am gleichen Tier zu beobachten. Woraus ich schließen möchte, daß diese Vorgänge sich sehr langsam abspielen. Es ging stundenlang an den Tieren keine sichtbare Änderung vor sich, bis eine diffuse Durchtränkung der Zelle eine genauere Beobachtung der Granula unmöglich machte. Ich nehme aber trotzdem einen Reaktionswechsel an, der hier Stoffwechselprozesse vermuten läßt. Dafür scheint mir stark der Umstand zu sprechen, daß ich Übergänge fand von alkalischer über neutrale zu saurer Reaktion. Bei Fig. 27 finden wir den Primiten deutlich alkalisch. Der Satellit zeigt tief violette Färbung. Bei dem folgenden Paare Fig. 28 finden wir den

Primiten gleichfalls orangegebl. Der Satellit dagegen zeigt bereits einen Übergang von neutraler zu saurer Reaktion, und der Primit des dritten Paares Fig. 29 zeigt ausgesprochen saure Reaktion. Merkwürdigerweise zeigt das hintere Tier dieses Paares keine Färbung.

In der verschiedenen Reaktion der Granula dürfen wir meiner Meinung nach wohl keine geschlechtliche Differenzierung erblicken. Und doch könnte hier vielleicht ein Zusammenhang jener eigentümlichen Erscheinung mit den geschlechtlichen Vorgängen vermutet werden.

Eine verschiedene Färbung war bereits bei den jüngsten freien Cephalonten vorhanden. Ich konnte des öfteren beobachten, wie verschieden reagierende Tiere sich zur Syzygie zusammen fanden. Ob hier wohl ein Mittel liegt zur Anziehung der beiden Individuen? Ich möchte es fast vermuten. Ich hoffe aber durch weitere eingehende Untersuchungen zu größerer Klarheit zu gelangen.

Durch dieses eigentümliche Verhalten der *Gregarina cuneata* tritt uns meiner Meinung nach deutlich die Tatsache entgegen, daß jedes der Tiere in starkem Maße seine Individualität behält, eine Beobachtung, über die ich mich bereits bei Schilderung der Bewegungsvorgänge äußerte. Diese Unterschiede bestehen nun nicht nur in Verschiedenheiten der jeweiligen Reaktion, sondern es scheint auch das Eindringen des Farbstoffes in die Zelle, nicht bei allen Individuen gleich schnell zu erfolgen, was ein Blick auf Fig. 29 lehrt. Hier fanden wir den Primiten gefärbt, während der Satellit den Farbstoff nicht angenommen hat. Auch letzterer färbte sich, aber erst etwas später.

Ferner kann das Neutralrot, das sich bereits in der Bakteriologie einen Platz als wichtiges Mittel zur Differentialdiagnose erworben hat, z. B. GORDON 1903 auch hier zum gleichen Zwecke dienen. Noch AIMÉ SCHNEIDER 1875 verwechselte *Gregarina polymorpha* und *Gregarina cuneata*, und es gibt tatsächlich Formen, wo man bei weniger genauer Kenntnis in Zweifel geraten könnte. Aber BERNDT 1902 machte die Beobachtung, daß beide Spezies sich gegen Methylgrün verschieden verhielten, indem nämlich *Gregarina cuneata* eine größere Affinität zu diesem Farbstoff aufwies als *Gregarina polymorpha*. Die letztere verhält sich nun auch Neutralrot gegenüber ganz anders. Hier tritt die Farbe so rasch in die Zelle ein, daß sehr bald eine diffuse Durchtränkung zu beobachten ist. Eine so lebhaftere Farbreaktion wird daher hier niemals beobachtet.

Dürfen wir jene Differenzierungen, denen wir bei den freileben-

den Formen begegnen, nun tatsächlich als geschlechtlicher Natur ansehen oder nicht?

Gerade bei den hier in Frage kommenden Formen wissen wir noch nicht einmal einwandfrei, ob wir Anisogamie oder Isogamie vor uns haben. Die Angaben von LÉGER ET DUBOSCQ 1909 über schwach ausgeprägte Anisogamie haben sich noch nicht wieder bestätigen lassen. Obgleich die Tiere gerade in letzter Zeit wieder von OLGA SCHIFFMANN 1919 untersucht wurden. Ehe diese Dinge nicht vollständig klar liegen, und ehe wir tiefer eingreifende Unterschiede sexueller Natur kennen (hierhin würde eine Differenz der chromatischen Substanz gehören), und Hand in Hand hiermit ständig jenen oben geschilderten Differenzierungen begegnen, dürfen wir uns kein abschließendes Urteil erlauben. Meine Untersuchungen hierüber sind aus einem Arbeitsgebiet herausgegriffen, das mich in nächster Zeit noch weiter beschäftigen wird. Noch möchte ich jene strukturellen und färberischen Unterschiede bei den freien Gregarinen nicht als konstant ansehen, obgleich ich sie bis jetzt mit ziemlicher Regelmäßigkeit antraf.

Wohl glaube ich mit Sicherheit für die in der Cyste liegenden Tiere die Unterschiede in Struktur und Färbung als konstant ansehen zu dürfen. Aber von Männchen und Weibchen dürfen wir hier erst sprechen, wenn wir genau die Gameten kennen und sagen können, welchem Elterntier sie entstammen.

Daß sexuelle Unterschiede hier selbstverständlich vorhanden sein müssen, ist wohl ohne weiteres klar. Findet doch niemals eine Copulation zwischen den Gameten der gleichen Tiere statt.

Viele interessante Fragen harren hier noch der Lösung. Wann tritt eine geschlechtliche Differenzierung im Laufe der Ontogenese ein? Worin beruht sie überhaupt?

Ich hoffe in einiger Zeit weiter darüber berichten zu können.

Zum Schlusse sei es mir gestattet, auch hier an dieser Stelle meinem hochverehrten Lehrer Herrn Geh. Reg.-Rat Prof. Dr. E. KORSCHULT für die Anregung zu dieser Arbeit sowie für sein gütiges, förderndes Interesse meinen ehrerbietigsten Dank auszusprechen. Ebenso danke ich den Herren Prof. Dr.: HARMS, F. A. SCHULZE, TÖNNIGES und WEIGEL für ihre freundliche Unterstützung.



**Literaturverzeichnis.**

- AWERINZEW, S. (1909): Studien über parasitische Protozoen. Arch. f. Protistenk. Bd. 16.
- (1910): Studien über parasitische Protozoen. IV. Beobachtungen über die Entwicklung von Coccidien aus dem Darne von *Cerebratulus* sp. Arch. f. Protistenk. Bd. 18.
- VAN BENEDEN, EDOUARD (1872): Notes sur la structure des Grégarines. Bull. de l'Acad. royale de Belgique 2. Sér. T. 33.
- BERNDT, ARTHUR (1902): Beiträge zur Kenntnis der im Darm der Larve von *Tenebrio molitor* lebenden Gregarinen. Arch. f. Protistenk. Bd. 1.
- BOLDT, MARTIN (1910): Zwei neue Gregarinenarten aus *Ocталasium complanatum*. Zool. Anz. Bd. 36.
- BRASIL, LOUIS (1904): Contributions à la connaissance de l'appareil digestif des Annelides polychètes. Arch. de Zool. expér. (4) T. 2.
- (1905 a): Recherches sur la reproduction des Gregarines. Arch. de Zool. expér. et gén. (4) T. 3.
- (1905 b): Sur la reproduction des Grégarines monocystidées. Ibid. T. 4.
- (1907): Recherches sur le cycle évolutif des Séléniidae. Arch. f. Protistenk. 1907 Bd. 8.
- (1909): Documents sur quelques sporozoaires d'Annelides. Ibid. Bd. 16.
- BRASS, ARNOLD (1883): Die Organisation der tierischen Zelle. Halle.
- BÜTSCHLI, O. (1880—82): BRONN's Klassen und Ordnungen des Tierreichs. Bd. 1. I. Protozoa.
- (1885): Bemerkungen über einen dem Glykogen verwandten Körper bei den Gregarinen. Zeitschr. f. Biol. Bd. 21.
- (1892): Die Bewegung der Diatomeen. Verhandl. d. Naturhist. med. Vereins zu Heidelberg N. F. Bd. 4 H. 5.
- CAULLERY et MÉSNIL (1899): Sur quelques parasites internes des Annelides. Tr. St. zool. Wimereux Vol. 7.
- CLAPARÈDE (1861): Etudes anatomiques sur les Annelides, Turbellariés, Opalines et Grégarines observés des les Hébrides. Mem. de la soc. phys. et d'hist. nat. Genève T. 16.
- COMES, SALVATORE (1908): Untersuchungen über den Chromidialapparat bei Gregarinen. Arch. f. Protistenk. Bd. 10.
- CRAWLEY (1902/3): The progressive movements of Gregarines. Proceedings of the Academy of Natural Sciences of Philadelphia Vol. 54.
- (1905): The movements of Gregarines. Ibid. Vol. 57.
- CUÉNOT (1901): Recherches sur l'évolution et la conjugaison des Grégarines. Arch. de Biol. T. 17.
- DEMBOWSKI (1913): Versuche über Merotomie der Gregarinen. Arch. f. Protistenk. Bd. 29.
- DOFLEIN (1916): Lehrbuch der Protozoenkunde. Jena.
- DOGIEL, V. (1906): Beiträge zur Kenntnis der Gregarinen. Arch. f. Protistenk. Bd. 7.
- ENGELMANN, TH. W. (1875): Kontraktilität und Doppelbrechung. Arch. f. d. ges. Physiol. Bd. 11.
- EIMER, TH. (1870): Über die ei- oder kugelförmigen sog. Psorospermien der Wirbeltiere. Würzburg 1870.

- FANTHAM, H. B. (1910): The morphology and life-history of *Eimeria* (Coccidium) avium. Proceedings of the zool. soc. of London.
- FECHNER, R. (1915): Die Chemotaxis der Oscillarien und ihre Bewegungserscheinungen überhaupt. Zeitschr. f. Bot. Bd. 7.
- FRANTZIUS, ALEXANDER V. (1848): Observationes quaedam de Gregarinis. Diss. inaug. Berol.
- FRENZEL, JOHANNES (1892): Über einige argentinische Gregarinen. Jen. Zeitschr. f. Naturwiss. N. F. Bd. 27 p. 20.
- GLÄSSNER (1908): Über Balantidienenteritis. Centralbl. f. Bakt. (Orig.) Bd. 47.
- GORDON (1903): Notiz über Anwendung des Neutralrots usw. Ibid.
- HALL (1907): A Study of some Gregarines. Exper. Ref. Hyrmocystis rigida, St. Un. Nebr. No. 77.
- HAMMERSCHMIDT, C. B. 1838: Helminthologische Beiträge. Isis (herausg. von OKEN).
- HARTMANN u. SCHILLINGS (1917): Die pathogenen Protozoen.
- HEINZERLING (1908): Der Bau der Diatomeenzelle. Marburg, Bibl. botan. Bd. 69.
- HESSE, EDMOND (1910): Les Monocystidées des Oligochètes. Arch. de Zool. exper. 5. sér. T. 3.
- HÖBER, R. (1901): Über Resorption im Darm. PFLÜGER'S Arch. Bd. 86.
- (1911): Physikalische Chemie der Zelle und der Gewebe.
- JENSEN, PAUL (1896): Über individuelle physiologische Unterschiede zwischen Zellen der gleichen Art. Arch. f. d. ges. Physiol. (PFLÜGER) Bd. 62.
- KHAINSKY, A. (1911): Zur Morphologie und Physiologie einiger Infusorien. Arch. f. Protistenk. Bd. 21.
- KLEBS, G. (1885): Über Bewegung und Schleimbildung der Desmidiaceen. Biol. Centralbl. Bd. 5 Nr. 12.
- KÖLLIKER (1848): Beiträge zur Kenntnis niederer Tiere. Zeitschr. f. wiss. Zool.
- KEUKENBERG (1878): Untersuchungen des physiol. Instituts Heidelberg. 2.
- KUSCHAKEWISCH, S. (1907): Beobachtungen über vegetative, degenerative und generative Vorgänge bei den Gregarinen des Mehlwurmdarmes. Arch. f. Protistenk., Suppl. I.
- LANKASTER, RAY (1872): Remarks on the structure of the Gregarinae. Quart. Journ. of micr. Science N. S. Vol. 12.
- LAUTERBORN, R. (1896): Untersuchungen über Bau, Kernteilung und Bewegung der Diatomeen. Leipzig.
- LÉGER, LOUIS (1898): Essais sur la Classification des Coccidies et Description de quelques espèces nouvelles ou peu connues. Bull. Mus. Marseille T. 1 1898 Fasc. 1.
- (1904): La reproduction sexuée chez les Stylorhynchus. Arch. f. Protistenk. Bd. 3.
- (1906): Etude sur les Grégarines à développement complètement intracellulaires ou indivises. (Ex Monocystis cionae.)
- (1906): Etude sur Taeniocystis mira LÉGER, Grégarine métamérique. Arch. f. Protistenk. Bd. 7.
- LÉGER et DUBOSCQ (1900): Les Grégarines et l'épithélium intestinale. Paris.
- — (1901): Sur les premiers stades du développement de quelques Polycystidées. Paris.
- — (1902): Les éléments sexuels et la fécondation chez les Pterocephalus. C. R. Acad. Sci. Paris T. 134.
- — (1903): La reproduction sexuée chez Pterocephalus. Arch. de Zool. exper. Notes et Revue 9.

- LÉGER et DUBOSCQ (1904): Nouvelles recherches sur les Grégarines et l'épithélium intestinal des Trachéates. Arch. f. Protistenkd. Bd. 4.
- — (1907): L'évolution des Frenzelina. Grenobles Annales T. 19.
- — (1908): L'évolution schizogonique d'Aggregata éberthi. Arch. f. Protistenk. Bd. 12.
- — (1909): Études sur la sexualité des Grégarines. Ibid. Bd. 17.
- LEIDY (1853): On the organisation of the genus Gregarina of Dufour. Trans. Am. philos. Soc. 1853 N. S. Vol. 10.
- LIEBERKÜHN (1865): Beitrag zur Kenntnis der Gregarinen. Arch. f. anat. Phys. u. wiss. Med. Berlin.
- LÜHB, MAX (1904): Bau und Entwicklung der Gregarinen. Arch. f. Protistenk. Bd. 4.
- MARSHALL, W. S. (1892): Beiträge zur Kenntnis der Gregarinen. Inaug.-Diss. Leipzig.
- MERTON, HIGO (1913): Eine neue Gregarine, *Nina indica*. Abhandl. d. Senckenb. Ges. Frankfurt a. M. Bd. 34 1913.
- METALNIKOFF (1903): Über die intracelluläre Verdauung. Bull. de l'Acad. Sc. d. St. Pétersbourg Vol. 19 5. Ser.
- MEYER, ARTHUR (1919): Morphologische und physiologische Analyse der Zelle der Pflanzen und Tiere. I. Teil. Jena.
- MOUTON: C. R. Soc. Biol. T. 55.
- MRAZEK, AL. (1892): O tak svané Monocystis tenax STEIN. Zviastni otisk Věstnika královské české společnosti nauk (Ročník 1892).
- MÜLLER, OTTO: Die Ortsbewegung der Bacillariaceen. I—V. Ber. d. deutsch. Bot. Ges. 1889, 1894, 1896 a u. b, 1897.
- NÄGELI, C. (1849): Gattungen einzelliger Algen.
- NIENBURG (1916): Neuere Untersuchungen über Cyanophyceen. Arch. f. Protistenk. Bd. 36.
- NIRENSTEIN, E. (1905): Beitrag zur Ernährungsphysiologie der Protisten. Zeitschr. f. allgem. Physiol. Bd. 5.
- OLTMANN, F. (1904/5): Morphologie und Biologie der Algen. Jena.
- OVERTON, E. (1900): Studien über die Aufnahme der Anilinfarben durch die lebende Zelle. Jahrb. f. wiss. Botanik Bd. 34.
- PAEHLER, FRANZ (1904): Morphologie, Fortpflanzung, Entwicklung von Gregarina ovata. Arch. f. Protistenk. Bd. 4.
- PFEFFER, E. (1910): Untersuchungen über die Gregarinen im Darm der Larve von *Tenebrio molitor*. Arch. f. Protistenk. Bd. 19.
- PFITZER, E. (1871): Untersuchungen über Bau und Entwicklung der Bacillariaceen. Botan. Abhandl. S. Hanstein.
- PLATE (1886): Untersuchungen über einige an den Kiemenblättern von *Gammarus pulex* lebende Ectoparasiten. Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. 43.
- PORTER, ANNIE (1908): *Merogregarina amaroucii* nov. gen. Arch. f. Protistenk. Bd. 15.
- PORTER, JAMES (1898): Two new Gregarinida. Journ. of micr. Sc. Bd. 14.
- PRENANT, A. (1903): Questions relatives aux cellules musculaires. Arch. de Zool. exper. 4. sér. T. 1 Notes et Revue.
- PROWAZEK, S. v. (1898): Vitalfärbungen mit Neutralrot an Protozoen. Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. 68.
- PÜTTER, A. (1905): Die Atmung der Protozoen. Zeitschr. f. allgem. Physiol. Bd. 5.
- REICH, FELIX (1913): Das Kaninchencoccid *Eimeria stiaedae*. Arch. f. Protistenk.
- RHUMBLER, L. (1899): Allgemeine Zellmechanik. Merkel Bonnet. Ergebn. d. Anat. u. Entwicklungsgesch. Bd. 8.

- SCHAUDINN, FRITZ (1900): Untersuchungen über den Generationswechsel bei Coccidien. Zool. Jahrb. f. Morphol. Abteil. Bd. 13.
- SHELLACK, C. (1907): Über die Entwicklung von *Echinomera hispida*. Arch. f. Protistenk. Bd. 9.
- : Handbuch der pathogenen Protozen von PPOWAZEK 1912.
- SCHEWIAKOFF (1894): Über die Ursache der fortschreitenden Bewegung der Gregarinen. Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. 38.
- SCHIFFMANN, OLGA (1919): Über die Fortpflanzung von *Gregarina blattarum* und *Gregarina cuneata*. Arch. f. Protistenk. Bd. 40 H. 1.
- SCHNEIDER, ARMÉ (1875): Contributions à l'histoire des Grégarines des invertébrés. Arch. de Zool. expér. et gén. T. 4.
- SCHNEIDER, ANTON (1858): Über einige Parasiten der *Holothuria tubulosa*. MÜLLER'S Archiv.
- SCHUBERG (1895): Die Coccidien aus dem Darne der Maus. Verhandl. d. naturw.-med. Ver. Heidelberg N. F. Bd. 5 H. 4.
- SCHULTZE, MAX (1865): Die Bewegung der Diatomeen. Arch. f. mikr. Anat. Bd. 1.
- SIEDLECKI (1899 a): Etude cytologique et cycle évolutif de *Adelea ovata* SCHNEIDER. Ann. Inst. Pasteur.
- (1899 b): Über die geschlechtliche Vermehrung der *Monocystis ascidia*. Bull. internat. de l'Acad. des Sci. de Cracovie.
- SOKOLOW, B. (1912): Studien über die Physiologie der Gregarinen. Arch. f. Protistenk. Bd. 27.
- STEIN, FRIEDRICH (1848): Über die Natur der Gregarinen. Arch. f. Anat., Physiol. u. wiss. Medizin.
- SWARCZEWSKI, B. (1910): Beobachtungen über *Lankesteria* sp., eine in Turbellarien des Baikalsees lebende Gregarine. Festschr. f. R. HERTWIG Bd. 1, Jena.
- D'UDEKEM (1856): Mém. cour. et mém. de sav. étrang. de l'Acad. de Belgique 1856.
- VERWORN, MAX (1915): Allgemeine Physiologie. Jena.
- WEINLAND, E. (1901): Über Kohlehydratzersetzung ohne Sauerstoffaufnahme. Zeitschrift f. Biol. Bd. 42.
- WERNER, Kontreadmiral a. D. (1874): Das Buch von der deutschen Flotte.
- WOLTERS, MAX (1891): Die Conjugation und Sporenbildung bei den Gregarinen. Arch. f. mikr. Anat. Bd. 34.
- YAMAMOTO (1910): Über den Lokomotionsapparat der Protistenzellen. Centralbl. f. Bakt., Parasitenk. u. Infektionskrankh. I. Abt. Bd. 53.

### Tafelerklärung.

#### Tafel 11.

Fig. 1—4. 2  $\mu$  dicke Schnitte durch Gregarinen, gefärbt nach HEIDENHAIN. Bezeichnungen: g = Gallertschicht, ep = Epizyt, lm = Längsmyoneme, mg = Ringmyoneme, a = Anastomosen, r = Rippenstreifen, ect = Ectoplasma, en = Entoplasma.

Fig. 1. Querschnitt durch *Gregarina polymorpha*. Vergr. 3000.

Fig. 2. Flächenschnitt, Hinterende von *Gregarina polymorpha*. Vergr. 2000.

Fig. 3. Flächenschnitt, *Gregarina cuneata*. Ringmyoneme mit Anastomosen. Vergr. 3000.

Fig. 4. Flächenschnitt, *Gregarina cuneata*, die Cuticularfurchen und Längsmyoneme zeigend. Vergr. 3000.

Fig. 5—19. Schnitte durch den Mehlwurmdarm. Färbung nach GIEMSA-ROMANOWSKY.

Fig. 5—9. Intracelluläre Jugendstadien. Vergr. 3000.

Fig. 10. Junge Gregarine, zweikernig, am Darmepithel. Vergr. 2000.

Fig. 11—16 zeigen eine Differenz in der Färbung beider Körperabschnitte.

Fig. 11. Stück einer Gregarine mit Kern im Protomeriten. Vergr. 850.

Fig. 12—17. Zweikernige Gregarinen.

Fig. 12. *Gregarina polymorpha*. Vergr. 850.

Fig. 13. Gregarine mit degeneriertem Epimeriten. Vergr. 1000.

Fig. 14. Kern im Deutomeriten nur angeschnitten. Vergr. 1000.

Fig. 15. Epimeritenform von *Gregarina cuneata*. Vergr. 1000.

Fig. 16. *Gregarina polymorpha*, Epimerit etwas plattgedrückt. Protomeritenkern mit eigentümlich gezacktem Caryosom. Vergr. 850.

Fig. 17. *Steinina ovalis*. Vergr. 850.

Fig. 18. Stück einer *Gregarina cuneata*. Kern in beiden Abschnitten deutlich. Vergr. 1000.

Fig. 19. Stück einer Gregarine mit besonders deutlichem Kern in jedem Körperabschnitt. Vergr. 1000.

#### Tafel 12.

Fig. 20. Schnitt ( $2\ \mu$  dick) durch *Gregarina cuneata*. GIEMSA-Färbung. Differenzierung beider Körperabschnitte. Vergr. 400.

Fig. 21. Vitalfärbung, Bismarckbraun, *Gregarina steini*. Vergr. 180.

Fig. 22. Totalpräparat von *Gregarina steini*, Äther-Eosin-Methylenblau. Differenzierung der beiden Körperabschnitte. Vergr. 650.

Fig. 23 u. 24. Vitalfärbung mit Neutralrot, Differenzierung der freilebenden Formen von *Gregarina polymorpha* zeigend. Vergr. 210.

Fig. 25 u. 26. Vitalfärbung mit Neutralrot. Differenzierungen in der Cyste. Vergr. 105.

Fig. 27—29. Vitalfärbung mit Neutralrot. Deutliche Unterschiede in der Färbung der Granulationen zwischen beiden Syzygiten aufweisend. *Gregarina cuneata*. Fig. 27 Vergr. 210, Fig. 28 u. 29 Vergr. 325.

Fig. 30. 2—3  $\mu$  dicker Schnitt durch *Gregarina polymorpha*. GIEMSA-Färbung. Starke Anhäufung der eosinophilen Granula im Protomeriten. Vergr. 400.

Nachdruck verboten.  
Übersetzungsrecht vorbehalten.

## Über die mitotische Teilung von *Ceratium hirundinella*.

Von  
Dr. Géza Entz.

(Hierzu Tafel 13 u. 14 und 10 Textfiguren.)

---

Schon wiederholt wurde die Kernteilung von *Ceratium hirundinella* besprochen. Als erster berichtet darüber H. BLANC (2), dann ZACHARIAS (13) und BÜTSCHLI, doch wurde sie bis jetzt am eingehendsten von LAUTERBORN (12, hier auch diesbezügliche Literatur) untersucht. Gemäß seinen Mitteilungen steht die Kernteilung von *Ceratium hirundinella* inmitten zwischen der amitotischen und mitotischen Teilung; Centriolen und Chromosomen konnte er nicht beobachten. Im Jahre 1907 machte ich (7) die Beobachtung, daß bei der Kernteilung einer marinen Peridineen-Art (*Gonyaulax polygramma*) Chromosomen entstehen, welche der Länge nach gespalten werden. Von JOLLOS (10) und BORGERT (3, 4) wurde 1910 die Kernteilung mariner Ceratien als eine Mitose beschrieben. All diese Beobachtungen, welchen sich noch andere, an diversen Peridineen gemachte Aufzeichnungen anschließen, ließen es als sehr wahrscheinlich erscheinen, daß die Kernteilung an verschiedenen Peridineen-Arten nicht identisch verläuft. Gewiß ist es dieser Tatsache zuzuschreiben, daß JOLLOS (10) und BORGERT (3, 4) so verschiedene Ansichten über die Kernteilung der Peridineen vertreten. JOLLOS gibt Centriolen von *Ceratium*-Arten an, welche bei der Einleitung der Teilung, sowie auch bei der Bildung der Geißeln eine wichtige Rolle spielen. BORGERT behauptet, daß Centriolen — wenn

vorhanden — nur eine untergeordnete Rolle haben können. Um das tatsächliche Verhalten zu prüfen, hatte ich die Kernteilung von *Ceratium hirundinella* einer Kontrolle unterworfen. Die Untersuchungen habe ich sowohl an lebenden Organismen, wie auch an gefärbten Präparaten unternommen (Totpräparate und Schnittserien [2—5  $\mu$ ], Fixierung mit heißem Sublimat, gefärbt mit DELAFIELD'S Hämatoxylin oder HEIDENHAIN'S Eisenhämatoxylin). Ich denke hervorheben zu müssen, daß man alle Stadien der Kernteilung auch an lebenden Organismen mit homogener Immersion gut beobachten und so die Richtigkeit der Präparate kontrollieren kann. Doch lassen sich Teilungsstadien an lebenden Organismen bedeutend schwieriger beobachten, da die Anwendung von homogener Immersion an sich bewegendem, 100—360  $\mu$  langen Objekten viele Schwierigkeiten stellt.

Ich muß entschieden betonen, daß ich meine Beobachtungen an diesen Formen von *Ceratium hirundinella* gemacht habe, welche mit den Sommerformen des im Balaton (Plattensee) lebenden *Ceratium hirundinella* identisch sind (Fig. 1, 3, 4, 6 Taf. 13; vgl. Fig. 12a—k in meiner Abhandlung: Beiträge zur Kenntnis des Planktons des Balatonsees. Resultate der wissenschaftlichen Erforschung des Balatonsees Bd. 2 Teil 1. Anhang. Budapest 1904) und an der Form, welche von O. E. IMHOF („Resultate meiner Studien über die pelagische Fauna kleinerer und größerer Süßwasserforellen der Schweiz“, Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. 40 1884 p. 166—168 Taf. X Fig. 1) als *Ceratium reticulatum* bezeichnet wurde (Fig. 2, 5, 8—20 Taf. 13 u. 14).

Nach meinen Beobachtungen verläuft die Kernteilung von *Ceratium hirundinella* — wie es schon LAUTERBORN (12) bekannt war — in der Nacht zwischen 3—4 Uhr.

Um ein Bild der Kernteilung von *Ceratium hirundinella* zu bekommen, mußte ich zu allererst darüber Rechenschaft geben, wie eigentlich die Struktur des ruhenden Kernes ist? — Auch mir steht es klar vor Augen, daß man von einer Ruhe an lebenden Organismen eigentlich nicht reden kann; wenn man aber dies doch angibt, so muß man als in relativer Ruhe befindlichen latent lebenden Organismen, die Encystierten betrachten. Demzufolge untersuchte ich zu allererst die Kerne der Cysten von *Ceratium hirundinella*, welche mir zu Tausenden zur Verfügung stehen (Planktonprobe, Großer Teich in Tata [= Totis, Ungarn] 1906, 6. Oktober). Der Kern der Cysten erscheint (Taf. 13 Fig. 1) als aus sehr kleinen Kügelchen zusammengesetzt. Diese Kügelchen sind äußerst klein, so winzig, daß ich sie nur bei Anwendung homogener Immersion (ZEISS hom. Imm. 2 mm

n. A. 1,30, Comp. Oc. 4—8) unterscheiden konnte. Auch stehen sie so eng nebeneinander, daß ich ihre Anwesenheit an gefärbten Präparaten nur dann konstatieren konnte, wenn — nach starker Differenzierung — nur sehr wenig Farbstoff zurückblieb. Diese Struktur konnte ich so an Totopräparaten wie auch an Schnitten nachweisen, und zwar nur diese Struktur, unabhängig von der Richtung des Schnittes; in einigen Cysten waren die Kernkugelchen in schiefen Reihen angeordnet, ähnlich den Kernen, welche sich zur Teilung vorbereiten. Nucleolen konnte ich zwischen den Tausenden der Cysten nicht beobachten. Ich traf in allen Cysten nur einen Kern. Die Form der Cystenkerne ist — wie auch der beweglichen Formen — ein dreiachsiges Ellipsoid; der lange Durchmesser beträgt 12—16  $\mu$ , die beiden, ungefähr gleich langen, kürzeren gegen 14  $\mu$ . Eine Kernmembran konnte ich weder in der Cyste, noch an beweglichen Formen nachweisen; Kalilauge löste weder Kern noch Plasma des mit Alkohol fixierten Marials. Das Plasma der Cyste ist grobwabig — richtiger schaumig — spongiös (Fig. 1).

Zwischen den „Waben“ befinden sich stäbchenförmige Chromatophoren (in der Fig. 1 sind diese nicht angegeben), so wie Reservestoffe (in der Fig. 1 als helle Räume zwischen dem Plasma angedeutet). Die Größe der Kernkugelchen läßt sich approximativ angeben, da auf eine Einteilung des Mikrometer-Okulars 5 Kugelchen fallen, welche voneinander mit ebenso großen Zwischenräumen separiert werden wie ihr Durchmesser ist: muß ihr Durchmesser ein Zehntel der Mikrometer-Okulareinteilung sein, in unserem Fall also (ZEISS hom. Imm. 2 mm n. Ap. 1,30, Micr. Oc. Nr. 6)  $\frac{1}{10}$  von 1,3  $\mu$ , also 0,13  $\mu$  sein<sup>1)</sup>.

Nachdem die Kernstruktur der Cysten, also der in Ruhe befindlichen Individuen mir bekannt geworden ist, mußte ich unter den sich bewegenden Individuen nachforschen, ob sich zwischen ihnen nicht auch Individuen mit ähnlichem Kernbau befinden?

JOLLOS (10, p. 194) beschreibt marine Ceratien mit ähnlich gebautem Kern und hält sie für in Ruhe sich befindende; BORGERT aber (3, p. 6) bezweifelt, daß diese Kernstruktur an beweglichen Exemplaren vorkäme. BORGERT (3, p. 6) schließt sich diesbezüglich der Auffassung BÜTSCHLI'S (5) an, nach welcher die Kugelchen nur

<sup>1)</sup> Die Zahl der Kernkugelchen läßt sich aus ihrer Größe (0,13  $\mu$ ), Distanz voneinander (0,13  $\mu$ ), Größe des halben Kerndurchmessers (7—10,5 und 7  $\mu$ ), wenn man den Kern als eine Rotationsellipsoide auffaßt, nach der bekannten Formel

$\left( \frac{4}{3} \pi a^2 b \right)$  berechnen.



optische Schnitte solcher Stäbchen wären, welche von ihrem Ende betrachtet werden. Obzwar diese Auffassung in sehr vielen Fällen tatsächlich der Wahrheit entspricht, muß ich doch mit JOLLOS behaupten, daß so gebaute Kerne nicht nur in den Cysten, sondern auch an sich frei bewegenden Ceratien aufzufinden sind. Solche Kerne zeigen von allen Seiten betrachtet ein ähnliches Bild, eine aus Kügelchen aufgebaute Struktur. Auch an anderen Peridineen habe ich ähnlich gebaute Kerne beobachtet (7, p. 259, Taf. VIII Fig. 8, *Gonyaulax*). Besonders schön läßt sich diese Kügelchenstruktur der Kerne von *Ceratium hirundinella* an Exemplaren beobachten, welche, an den Objektträger angetrocknet, sich nach GIEMSA färben ließen. Die Kerne der meisten so behandelten Individuen zeigten zwar eine Stäbchenstruktur, doch ließen sich auch einige beobachten, deren Kern aus abgerundeten Kügelchen bestand. Die Kügelchen bestehen, gemäß ihrer Färbbarkeit (mit GIEMSA [trocken] rot, mit DELAFIELD's Hämatoxylin und HEIDENHAIN's Eisenhämatoxylin), aus Chromatin. Von beweglichen Individuen zeigen eine solche Kernstruktur jene, welche im Intervall nachmittags 2 Uhr bis nachts 2 Uhr gesammelt wurden (Fig. 2).

Die Form des Ruhekerne der beweglichen Individuen ist eine dreiaxige Ellipsoide, der größte Hauptschnitt verläuft in der Richtung rechts-links (also Transversalschnitt), darauf folgt der äquatoriale — also Querschnitt — und am kleinsten ist der meridionale — also Sagittalschnitt.

Der Kern von *Ceratium hirundinella* ist — wie der Kern der Peridineen überhaupt — zur Zellgröße beträchtlich; als größten Durchmesser hatte ich 14—21  $\mu$  aufgezeichnet, im Querschnitt 15,6  $\mu$ . Der Kern der beweglichen Individuen ist also im Vergleich zu dem Kern der Cyste groß, da der längste Durchmesser (14—21  $\mu$ ) etwa um 2—5  $\mu$  länger ist als jener des Cystenkerne (12—16  $\mu$ ), der Querdurchmesser der beweglichen Form ist aber wenig größer (15,6  $\mu$ ), als dieser der Cyste (14  $\mu$ ) (vgl. Fig. 1 u. 2).

Nach meinen Beobachtungen ist der ruhende Kern der beweglichen Form von *Ceratium hirundinella* ähnlich dem Cystenkerne gebaut, doch lassen sich auch Differenzen konstatieren, da 1. die Kernkügelchen der beweglichen Form (linear) etwa doppelt so groß sind wie die Kernkügelchen der Cyste: ihr Durchmesser ist etwa 0,26  $\mu$ , jene der Cyste 0,13  $\mu$ ; 2. konnte ich in den Cysten nie Nucleolen auffinden, wohl aber in der beweglichen Form.

Die Nucleolen lassen sich mit Eisenhämatoxylin tief blau färben und werden oft von einem hellen (Schrumpfungs-)Hof umgeben

(Fig. 2, 4). Der Durchmesser der Nucleolen schwankt zwischen 2,6—3,25  $\mu$ . Die Zahl der Nucleolen ist eine recht verschiedene, worüber die kleine Tabelle Aufschluß geben mag<sup>1)</sup>.

| Zahl der Nucleolen | Zahl der Individuen |
|--------------------|---------------------|
| 0                  | 23                  |
| 1                  | 37                  |
| 2                  | 25                  |
| 3                  | 13                  |
| 4                  | 2                   |

im ganzen 100

Die Anordnung der Kernkugelchen ist eine ziemlich regelmäßige; nachdem sie alle ungefähr gleich groß sind, bilden sie schiefe Reihen mit etwa 60 gradigem Winkel, und stehen demzufolge wechselreihig angeordnet.

Das erste Anzeichen dessen, daß der Kern sich teilen wird, offenbart sich darin, daß die Kernkugelchen ihre Lage verändern, sie ordnen sich in parallele Reihen; der Kern erscheint aus Kugelchenreihen gebildet zu sein (Fig. 3). Die Nucleolen scheinen bei dieser Umgruppierung des Chromatins sich passiv zu verhalten, sie sind in diesem Stadium noch aufzufinden. Überhaupt scheinen sich die Nucleolen zu dieser Zeit vom Chromatin unabhängig zu verhalten; sie strecken sich zwar der Länge nach (Fig. 5), aber eine direkte Zweiteilung hatte ich nie konstatiert, wohl aber eine Erscheinung, welche als eine ungleiche, als eine „heteropole“ Teilung aufgefaßt werden könnte. Es ist nicht selten zu beobachten, daß einzelne Kernkugelchen mit dem Nucleolus, aber auch mit anderen Kernkugelchen (Taf. 13 Fig. 6, 7), man könnte sagen mit einer kurzen „Fibrille“, mit einer „Desmose“, verbunden sind. In einem Kern hatte ich auch so ein Bild angetroffen, daß sich solche „Desmosen“ kreuzten (Taf. 13 Fig. 7). Ob man aus diesen Bildern darauf schließen darf, daß die Chromatinkugelchen von Nucleolus herkommen (Fig. 6), und sich später ähnlich wie Bakterien teilen (Fig. 7) oder aber der Nucleolus durch Zusammenfließen von Chromatinkugelchen entsteht, sei dahingestellt<sup>2)</sup>. JOLLOS beobachtete (10, P. 195) ähnliche (fibrilläre)

<sup>1)</sup> Mit der GIESSA-Färbung lassen sich an *Ceratium hirundinella* Nucleolen nicht nachweisen, ebenso wie an *Peridinium (Peridiniopsis) borgei* und *Gymnodinium zachariasii* (7, p. 402). Ich will auch das bemerken, daß die Variation der Zahl der Nucleolen nicht einer Variationskurve (GALTON's-Zufallskurve) entspricht, die Ursache scheint nicht in einer individuellen Variation zu liegen. Als Länge der Nucleolen habe ich 3—4  $\mu$ , als Breite 2—3  $\mu$  gemessen.

<sup>2)</sup> Könnten diese Bilder in diesem Sinne gedeutet werden, müßte man den Nucleolus resp. die Nucleoli als Reserve für das Kernmaterial vielleicht für das

Verbindungen zwischen Kernkugelchen mariner Ceratien-Arten und hält sie identisch mit dem von ihm an *Gymnodinium fucorum* konstatierten Bildungen, welche er nicht nur an *Gymnodinium fucorum*, sondern auch an marinen Ceratien als Centriolen deutet. Laut JOLLOS stehen diese nucleolarfibrillären Verbindungen mit der Geißelbildung von *Gymnodinium fucorum* und auch der Ceratien zusammen, worüber ich, da ich die Geißelbildung an Ceratien nicht beobachten konnte, kein Urteil haben kann.

In demselben Zustand, also vielleicht zur selben Zeit als das Chromatin in Form von Kugelchen sich in Reihen anordnet, scheinen die Nucleolen allmählich (sich in Kernkugelchen aufteilend?) zu verschwinden, worauf diese Tatsache hinweist, daß in den folgenden Stadien Nucleolen nur ausnahmsweise zu beobachten sind.

BORGERT ist der Meinung (3, p. 30), daß Nucleolen an *Ceratium tripos* vorhanden sind, an *Ceratium fusus* aber im Spiremstadium verschwinden. Dieses Spiremstadium BORGERT's (3, p. 8—9) scheint das nächste zu sein, als sich das Chromatin in kurzen Fädchen befindet, welche unregelmäßig umherliegen und längs gespalten sind (Fig. 8). Als folgendes Stadium läßt sich dies auffassen, in welchem das Chromatin in langen Fäden anzutreffen ist; dies kann vielleicht dadurch zustande kommen, daß sich die kurzen Chromatindoppelfäden End zu End verschmelzen (Fig. 10).

Die Zahl der Chromatindoppelfäden beträgt im transversalen Längsschnitte (Fig. 12—17) etwa 24 (ich zählte 22, 23, 24) und in dem darauf vertikalen, sagittalen Längsschnitte 12—16 (Fig. 20). Nachdem die Chromatindoppelfäden ganz so gebaut sind, wie jene Chromatingebilde, welche BORGERT (3, p. 10—11) von marinen Ceratien abbildet, beschreibt und sie als der Länge nach gespaltene Chromosomen bezeichnet, muß ich die Chromatinfäden, diese Chromatinschleifen von *Ceratium hirundinella* ebenfalls als längsgespaltene

---

Chromatin halten und diese Bilder als heteropole Teilung des Nucleolus zu Chromatinkugelchen oder Chromatinkugelchen-Verschmelzung zu einem Nucleolus bezeichnen. Beiden Ansichten scheint aber diese Annahme zu widersprechen, daß die Nucleoli aus Platin, die Kugelchen aber aus Chromatin bestehen sollen. Die beobachteten Bilder mit einer „heteropolen“ Teilung der Nucleoli widersprechen jedenfalls der Auffassung, daß Nucleoli und Chromatinkugelchen voneinander ganz abweichende Gebilde seien und deuten darauf, daß diese zwei morphologisch gut absonderbaren Gebilde zueinander in enger physiologisch-chemischer Beziehung stehen und — wie es scheint — ineinander übergeben können. Diese Nucleoli scheinen wie SCHÜRHOFF meint (A. MEYER: Morphologische und physiologische Analyse der Zelle der Pflanzen und Tiere I. Teil P. 216, Jena, Fischer 1920) tatsächlich Reservestoff für den Chromatinvorrat des Kernes darzustellen.

Chromosomen bezeichnen. Doch muß ich darauf aufmerksam machen, daß BORGERT die Chromosomen (Fig. 10) mit scharf umgrenzten Linien abbildet; ich habe es aber so gefunden, daß an den Rändern der Chromosomen kleine Unebenheiten zu beobachten sind, welche vielleicht auf die Verschmelzung der Chromosomen mit den kleinen Chromatinkügelchen deuten. Solche Unebenheiten an den Rändern der Chromosomen sind übrigens auch von anderen Organismen längst bekannt. Die Länge der Chromosomen ist 15—20 $\mu$ , als die Breite habe ich 0,6—0,74 $\mu$  berechnet. Nachdem die Länge der Spiremsegmente 4—5 $\mu$  beträgt, konnten 3—4 Spiremsegmente zu je einem Chromosomen sich vereinigen, welche aus je zwei Chromatinkügelchenreihen gebildet wird; jede Reihe kann ungefähr aus 24—25 Chromatinkügelchen bestehen (vgl. mit den schematischen Figuren).

Die Chromosomen sind im ganzen so gebaut, wie sie BORGERT (3, p. 10) von *Ceratium tripos* beschreibt: in der Mitte etwas gebogene Doppelfäden, welche an beiden Kernpolen frei endigen; sie sind also nicht zurückgebogene, etwa eng sich anschließende Schenkel eines V-förmigen Gebildes, was auch LAUTERBORN nicht für wahrscheinlich hielt (12, p. 180). Die von LAUTERBORN angegebenen fädigen Verbindungen zwischen den Chromosomen habe ich ebenso wenig beobachtet, wie BORGERT an marinen Ceratien. Es ist nicht unmöglich, daß die von LAUTERBORN angegebenen fädenförmigen Verbindungen zwischen den Chromosomen identisch sind mit den von mir beobachteten Unebenheiten der Umrisse; doch muß ich bemerken, daß ich diesbezüglich sehr vorsichtig mich äußern möchte, da solche Differenzen auch Rassen- (Arten?) Charakter sein könnten, wozu Beobachtungen, welche ich am Kern von *Ceratium hirundinella* f. *furcoides* gemacht habe, mich berechtigen. Doch denke ich an dieser Stelle auf dies Problem nicht eingehen zu müssen.

Die beschriebene Anordnung der Chromosomen entspricht der Äquatorialplatte, deren lange Doppelchromosomen in ihrer Mitte sich trennen und nach den entgegengesetzten Polen wandern. Ich will betonen, daß bei dieser Wanderung die Chromosomen ihren doppelreihigen, doppelfädigen Aufbau behalten. Das Ende der wandernden Chromosomen neigte sich etwas gegen den Pol (Fig. 11, 12, 13).

Die Chromosomen sind ungefähr gleichlange einheitliche Gebilde, doch habe ich — so wie auch JOLLOS — an ihnen gelegentlich Gliederung beobachtet, was ich aber für Kunstprodukt (Fig. 16) halte. An dem Pol stellen die Chromosomen eine Art Polplatte dar (Fig. 13—16). Bei der Rekonstruktion des Ruhekerns bilden die

Chromosomen wieder ein Spirem (Fig. 18), dies teilt sich in kurze Doppelchromatinschleifen. Die Chromatinschleifen lösen sich in Chromatinkügelchen auf, worauf auch die Nucleolen erscheinen. Anfangs ist die reihenförmige Anordnung der Chromatinkügelchen noch wahrzunehmen, dann verschwindet aber auch dies und der Kern erscheint wieder aus kleinen Chromatinkügelchen aufgebaute Ruhekern.

BORGERT denkt die Zahl der Chromosomen von *Ceratium tripos* mit ungefähr 200 angeben zu können. Die Zahl der Chromosomen konnte ich an *Ceratium hirundinella* an Querschnitten nicht recht bestimmen, da ich nicht sicher sein konnte, ob ich ein Exemplar mit Ruhekern oder mit in Teilung begriffenem und der Länge nach geschnittenem Kern vor mir habe. Im Diaster zählte ich im transversalen Längsschnitt (Fig. 10—15) d. h. in der Richtung vertikal auf die Längsfurche

|    |                |   |          |
|----|----------------|---|----------|
| 28 | Chromosomen in | 2 | Fällen   |
| 26 | „              | „ | 1 Fall   |
| 24 | „              | „ | 4 Fällen |
| 23 | „              | „ | 3 „      |
| 22 | „              | „ | 2 „      |

Die Zahl der Chromosomen kann also in dieser Schnittebene auf 24 angegeben werden. In dem sagittalen Längsschnitt (Fig. 20) zählte ich 16 Chromosomen<sup>1)</sup>.

Aus diesen zwei longitudinalen Kernschnitten läßt sich die tatsächliche Zahl der Chromosomen durch einfache Multiplikation beiläufig berechnen. So wäre die Zahl der Chromosomen von *Ceratium hirundinella*  $24 \times 16 = 384$ . Nachdem aber die Chromosomen nicht in einem Parallelogramm, sondern in einer Ellipse angeordnet sind, muß die Differenz, welche zwischen der Fläche der Ellipse und des Parallelogramms besteht, abgerechnet werden. Dies macht etwa 100—120 aus, so daß die Zahl der Chromosomen auf etwa 284—264<sup>2)</sup> angegeben werden kann.

In der hohen Zahl der Chromosomen läßt sich die Kernteilung von *Ceratium hirundinella* mit der Kernteilung gewisser Radiolarien [*Aulacantha scolymantha* über 1000, *Castanidium variabile* 1500—1600, HAECKER (11, p. 85—86)] vergleichen und BORGERT verweist, daß eine Ähnlichkeit in der Teilung mariner Ceratien und der Kern-

<sup>1)</sup> In der ungarischen Abhandlung (6, p. 274) ist diese Schnitttrichtung un- deutlich angegeben, wonach man darauf schließen könnte, als ob es sich um den Querschnitt des Kernes handelte.

<sup>2)</sup> In der ungarischen Abhandlung hatte ich die Zahl mit 324 wie mir jetzt scheint, zu hoch angegeben.

teilung genannter Radiolarien besteht. Ich möchte hier noch anfügen, daß die Zahl der Chromosomen anderer Perideen auch hoch zu sein scheint. An *Gonyaulax* kann ich (7, Taf. IX Fig. 1) ihre Zahl gewiß höher als 100 angeben, an *Gymnodinium zachariasii* habe ich acht Chromatinschleifen gefunden, welche bei der Teilung anscheinend in je acht Glieder sich teilen, so daß ich die Zahl der Chromosomen an *Gymnodinium zachariasii* auf 64 angeben kann. Ich muß aber bemerken, daß ich an *Gymnodinium zachariasii* eine Längsspaltung der Chromosomen nicht beobachtet habe. Sollte dies bei ihrer Teilung sich auch abspielen, so müßte die Zahl ihrer Chromosomen 128 sein. Die Zahl der Chromosomen von *Gymnodinium zachariasii* läßt sich beiläufig auch an den Figuren meiner Abhandlung (8, Taf. III Fig. 8) konstatieren.

JOLLOS (10) bringt mit der Teilung von Ceratien die Geißelbildung in enge Beziehung, weshalb ich der Entstehung der Geißel eifrig nachging. Doch konnte ich diesbezüglich nur eine Aufzeichnung machen. An einem fixierten Exemplar (Kern: Dispirema) fand ich die Längsgeißel über der Pusule spiralfederig zusammengezogen. Sie schien ihren Ursprung aus einem großen Plasmakörper (?), Blepharoplast (?) zu nehmen. Dieser Körper war jenem Gebilde ähnlich, welches ich an *Gonyaulax* antraf (7, Taf. IX Fig. 5, 6). An *Ceratium hirundinella* war dies Gebilde linear etwa doppelt so groß wie der Blepharoplast (?) von *Gonyaulax* und darin ließen sich zwei intensiv gefärbte Pünktchen (Basalkörperchen?) wahrnehmen, welche miteinander durch eine Fibrille (?) verbunden waren.

Die Entstehung der Geißeln habe ich nicht beobachtet, obzwar auch ich Exemplare mit drei Geißeln (zwei Längs- und eine Quergeißel) beobachtet habe, doch blieb ihre Entstehung (Längsteilung? Hervorsprossung?) mir ganz unbekannt. Ob die besprochene Erscheinung, daß oft ein Nucleolus mit einem Chromatinkügelchen durch eine Fibrille verbunden ist, mit der Geißelbildung in Zusammenhang steht, oder nicht, darüber habe ich mir kein Urteil verschaffen können; JOLLOS bringt ähnliche Bilder mariner Ceratien mit deren Geißelbildung in Verbindung, welche an *Gymnodinium fucorum* zu beobachten ist. Sollte die Deutung von JOLLOS über die Geißelbildung mariner Ceratien richtig sein, dann könnten ähnliche an *Ceratium hirundinella* angetroffene Bilder ebenfalls mit der Geißelbildung in Zusammenhang stehen. In diesem Falle müßten die beobachteten heteropolen Teilungen der Nucleolen (Fig. 6, 7) ebenfalls mit der Geißelbildung in Zusammenhang stehen; dies läßt aber eine gewisse Skepsis deswegen nicht vertreiben, weil in einem Kern auch

mehrere solcher „heteropolen Teilungen“ zu beobachten sein konnten (Fig. 7). Nach HARTMANN (9, p. 418) sollen „heteropole Teilungen“, welche der Geißelbildung vorausgehen, an *Ceratium hirundinella* spät nachmittags anzutreffen sein. Ich fand die mitgeteilten Bildungen nachts zwischen 3—5 Uhr.

BORGERT verhält sich gegenüber diesen heteropolen Teilungen sehr skeptisch (4, p. 413), er schreibt ihnen keine Wichtigkeit zu: ich habe zwar „heteropole Teilungen“ ähnlich denen, welche JOLLOS beschrieb, angetroffen, habe auch meine Ansichten über ihre vermutliche Rolle als Hypothese angegeben, bin aber der Meinung, daß man zurzeit über ihre Bedeutung noch kein Urteil geben kann.

Nach meinen Beobachtungen verläuft die Kernteilung von *Ceratium hirundinella* ähnlich dem wie dies von BORGERT für marine Ceratien angegeben wird. Auch an *Ceratium hirundinella* läßt sich ein aufgeteiltes Spirem konstatieren, mit der Länge nach gespaltenen Chromosomen; es entsteht eine Äquatorialplatte, mit sehr langen Chromosomen, welche quergeteilt werden und deren eine Gruppe den einen, die andere gegen den anderen Pol wandert. Centriolen sind nicht aufzufinden. Bei der Rekonstruktion des Ruhekernes biegt sich der Kern (Fig. 17) sichelförmig, dann rollt sich das Chromatin sozusagen zu einem Spirem, Chromatinknäuel auf (Fig. 18), dessen Chromosomen nun sozusagen in Stücke brechen. Auch hier wird eine ähnliche Polplatte gebildet wie an *Aulacantha scolymantha*. Es scheint also, daß die Chromosomen sich sozusagen übereinander legen und in eine bestimmte Zahl Chromosomenstücke zerfallen, und so das geteilte Telospirema bilden (Fig. 18, 19).<sup>1)</sup> Nun zerfallen die Chromosomastücke in einzelne Kügelchen, wodurch die Struktur des Ruhekernes hergestellt wird.

Die Chromosomen sind auch an *Ceratium hirundinella* fadenförmig, ihre Zahl ist groß (264—284) und auch hier werden die Chromosomen im Verlauf der Teilung längsgespalten, wodurch ihre Zahl verdoppelt wird.

Nach BORGERT soll die bei der Teilung entstehende Verdoppelung der Chromosomen an marinen Ceratien durch die von APSTEIN (1) aufgezeichnete Kernknospung reguliert werden (3, p. 42): so eine Regulation durch Kernknospung ist von *Ceratium hirundinella* nicht bekannt — doch wäre es nicht unmöglich, daß bei der von ZEDERBAUER (14) und mir (7) beobachteten Copulation auch so ein Vor-

<sup>1)</sup> Ähnliche Bildungen habe ich auch an *Gymnodinium zachariasii* und *Peridinium (Peridiniopsis) borgei* beobachtet, doch nicht publiziert.

gang sich abspielt. Es kann aber auch sein, daß die der Länge nach gespaltenen Chromosomen paarweise miteinander verschmelzen und so die Chromosomen der Teilindividuen bilden.

Gemäß meinen Beobachtungen scheint zwischen der mitotischen Kernteilung der marinen und der von mir beobachteten Süßwasser-*Ceratium*-Arten keine belangreiche Differenz vorhanden zu sein, wie dies von BORGERT — auf Grund eigener Beobachtungen und LAUTERBORN's Aufzeichnungen — angegeben wird (12, p. 38—39); im Gegenteil kann eine große Übereinstimmung in der Mitose beider angegeben werden: eine Mitose ohne Centriolen und Spindelfasern mit geteiltem Spirem, hoher, bei der Mitose sich der Länge nach spaltenden verdoppelnden Chromosomenzahl.

---

Nachdem ich die Kernteilung von *Ceratium hirundinella* und *Ceratium reticulatum* von Anfang bis Ende verfolgt hatte, habe ich meine Ergebnisse mit jenen JOLLOS', LAUTERBORN's und BORGERT's verglichen und habe es auch am lebenden Organismus wieder studiert. Bei diesem Vergleiche hatte es sich herausgestellt, daß fast sämtliche Angaben über Teilungsstadien der Ceratien und zwar nicht nur diese von JOLLOS und BORGERT, sondern auch jene von LAUTERBORN aufzufinden sind. Ich habe nämlich auch Kerne mit wabigem Bau, also so gebaute, wie LAUTERBORN in seiner Fig. 1 Taf. II darstellt, sowie auch solche, wie sie von LAUTERBORN an Taf. XII Fig. 2, 9 und 10 dargestellt sind, angetroffen. Nachdem all die mitgeteilten Verschiedenheiten im Kernbau an zwei Formen, und zwar gleich konservierten Formen aufzufinden sind und nachdem ich ganz ähnliche Stadien sowohl an einer Süßwasserart (*Peridinium* [*Peridiniopsis*] *borgei*) als an einer marinen Art (*Gonyaulax polygramma*) aufgefunden habe, glaube ich, daß ich kein Kunstprodukt vor mir habe, was durch die Auffindung all dieser Formen an lebenden Exemplaren als ausgeschlossen gelten kann. Es scheint also, daß bei der Kernteilung dieser *Peridineen* folgende Veränderungen im Kern zu beobachten sind:

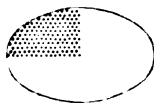
1. Fein kugelig, aus minimalen Kügelchen bestehend. Ruhekern der Cysten ohne Nucleolen. (Textfig. A.)
2. Aus größeren Kernkügelchen bestehender Ruhekern der beweglichen Form mit Nucleolen (JOLLOS' Ruhekern). (Textfig. B.)
3. Kern mit in Reihen angeordneten Kügelchen, Nucleolen vorhanden, Kügelchen kompakt. (Taf. 13 Fig. 3.)



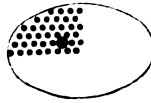
4. Kügelchen inwendig durch Auftreten einer Vacuole hohl erscheinend. Kügelchen stehen voneinander so weit, daß sie sich gegenseitig nicht berühren. (Textfig. C.)

5. Die Vacuole vergrößert sich, die Kügelchen berühren sich und (Textfig. D) drücken sich zu Waben zusammen, in deren Knotenpunkte Chromatinmicrosomata zu beobachten sind. LAUTERBORN's Ruhekern.

6. Die Wabenvacuolen vergrößern sich und drücken sich mehr oder weniger zusammen, wodurch knäueiförmige Wabenanordnung zustande kommt (Faserknäuel LAUTERBORN's [Taf. XII Fig. 2]). (Textfig. E.)



Textfig. A.



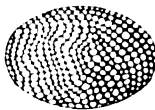
Textfig. B.



Textfig. C.



Textfig. D.



Textfig. E.



Textfig. F.



Textfig. G.



Textfig. H.



Textfig. J.



Textfig. K.

Textfig. A. Schema der Chromatinverteilung in der Cyste. Chromatinkügelchen klein, keine Nucleolen.

Textfig. B. Ruhekern der beweglichen Form. Größere Chromatinkügelchen und Nucleol.

Textfig. C. Schema der Kernkügelchen mit Vakuolen.

Textfig. D. Wabiger Ruhekern, „Waben“ entstanden durch gegenseitigen Druck der Kernkügelchen. Kaum verändert, nach einem Präparat.

Textfig. E. Waben ordnen sich in Reihen an. Nach Präparat kaum verändert.

Textfig. F. Teilspirem BORGERT's.

Textfig. G. Äquatorialplatte BORGERT's.

Textfig. H. Polplatte BORGERT's.

Textfig. J u. K. Anfangsstadien der Herstellung des Ruhekernes. Übergang der Äquatorialplatte zu einem in Textfig. E dargestellten Stadium.

7. Nun zerfallen die aufgelockerten Kernelemente zu längsgespaltene Chromatingliedern (Teilspirem *BOERGERT's*). (Textfig. F.)

8. Die Chromatinglieder verbinden sich zu Chromosomen und bilden die Aquatorialplatte mit der Länge nach gespaltenen Chromosomen (*BOERGERT*). (Textfig. G.)

9. Die Chromosomen werden in ihrer Mitte eingeschnürt und so auf die zwei polwärts wandernden Chromosomen verteilt. Fig. 10.

10. Polplatten.

11. Teilspiremen der geteilten Individuen.

12. Wabenreihiger Kern der geteilten Individuen.

13. Grobwabiger Kern der geteilten Individuen.

14. Feinwabiger Kern der geteilten Individuen.

15. Großkörniger Kern mit Nucleolen, d. h. Ruhekern der geteilten Individuen.

Diesen beschriebenen Verlauf der Kernteilung habe ich auch an *Peridinium (Peridiniopsis) borgeri* (beobachtete Stadien entsprechen den Textfig. C, E, F der *Ceratium*-Teilung), und *Gonyaulax polygramma* (beobachtete Stadien entsprechen den Textfig. C, D, E, F der *Ceratium*-Teilung) angetroffen, was es sehr wahrscheinlich macht, daß dieser Teilungsmodus bei den Peridineen weit verbreitet sein kann.

Wenn wir nicht die ganze Kernteilung, sondern nur das Verhalten seiner Elemente der Kernkugelchen und Chromosomen betrachten, so können wir folgende Veränderungen konstatieren. Das minimal kleine Kernkugelchen wächst an und wie es scheint kann es sich durch Teilung vermehren. So können die Kernkugelchen an Zahl zunehmen (Taf. 13 Fig. 6, 7). Bei der Teilung wachsen die Kernkugelchen an, nun tritt in ihnen eine Vakuole auf (Textfig. A—E), (*Gonyaulax, Peridinium [Peridiniopsis] borgeri*), die Kugelchen sind anfangs noch rund, werden aber infolgedessen, da sie sich gegenseitig bei ihrem Heranwachsen drücken, zu sechseckigen (im Körper rhomboedrigen) Waben (*Ceratium, Gonyaulax, Peridinium*), welche sich vergrößern, und in ihren Berührungspunkten erscheinen Chromatinansammlungen (*Ceratium, Gonyaulax, Peridinium*), die Waben wachsen (Textfig. E) noch weiter, es entstehen mehr oder minder kubische Waben, in deren je zwei parallele Seiten Chromatin sich ansammelt (*Ceratium*), wodurch kleine Glieder, Ringe (?) entstehen, die je zu zehn in einem Teil vereinigt erscheinen (*Ceratium*). Diese Teile vereinigen sich aneinanderreihend zu Chromosomen. Es erscheint also, wie wenn in der chromatischen Substanz des Kernes zwei voneinander verschiedene Substanzen vorhanden wären, das eine,

welches die Kernkugelchen bildet und dem Chromatin zu entsprechen scheint, macht den Eindruck einer schwerflüssigen, gelatinösen Substanz, in welche eine leichtflüssigere Flüssigkeit bei der Teilung eindringen, in ihr Vakuolen bildend später das Kernkugelchen zu einer Wabe, und zuletzt in zwei Kugelchenreihen verwandeln möchte.

Vorgelegt in der am 15. Oktober 1917 gehaltenen Sitzung der Ungarischen Akademie der Wissenschaften zu Budapest. Erschienen in: *Mathematikai és természettudományi értesítő* 1918 Bd. 36 p. 266 bis 278.

### Literaturverzeichnis.

- 1) APSTEIN, C.: Knospung bei *Ceratium tripos* v. subsalsa. *Internat. Revue der ges. Hydrobiologie und Hydrographie* 1910 Bd. 3 p. 34—36.
- 2) BLANC, H.: Note sur le *Ceratium hirundinella* (O. FR. M.). *Bull. soc. vaud. sc. nat.* Vol. 21 Tom. 10 1884 p. 11.
- 3) BORGERT, A.: Kern- und Zellteilung bei marinen *Ceratium*arten. *Arch. f. Protistenk.* 1910 Bd. 20.
- 4) —: Eine neue Form der Mitose bei Protozoen. *Verhandl. d. VIII. internat. Zoologenkongresses in Graz* 1910 p. 408—418.
- 5) BÜTSCHLI, O.: Einige Bemerkungen über gewisse Organisationsverhältnisse der Cilioflagellaten und der Noctiluca. Mit einem Beitrag von ASKANASY. *Morph. Jahrb.* 1883 Bd. 10 p. 529—577.
- 6) ENTZ, G. jr.: A *Ceratium hirundinella* mitoticus osztódásáról. *Mathematikai és természettudományi értesítő* 1918 Bd. 35 p. 266—278. Mit Tafel I—IV.
- 7) —: Über die Organisationsverhältnisse einiger Peridineen. *Mathem. u. naturwiss. Berichte aus Ungarn* 1907 Bd. 25 p. 246—274.
- 8) —: Über ein Süßwasser-Gymnodinium. *Arch. f. Protistenk.* 1913 Bd. 29 p. 399—406.
- 9) HARTMANN, M. siehe BORGERT (4), p. 418.
- 10) JOLLOS, V.: Dinoflagellatenstudien. *Arch. f. Protistenk.* 1910 Bd. 19 p. 178—206.
- 11) LANG, A. u. LÜHE, M.: *Handb. der Morphologie der wirbellosen Tiere.* Bd. 1. Protozoa. 1913.
- 12) LAUTERBORN, R.: Protozoenstudien. I. Kern- und Zellteilung von *Ceratium hirundinella* O. F. M. *Zeitschr. f. wiss. Zool.* 1895 Bd. 59 p. 167—190.
- 13) ZACHARIAS, O.: Forschungsberichte a. d. Station zu Plön 1894 Teil 2.
- 14) ZREDERBAUER, E.: Geschlechtliche und ungeschlechtliche Fortpflanzung von *Ceratium hirundinella*. *Ber. d. deutsch. botan. Ges.* 1904 Bd. 22 p. 1—8.

## Tafelerklärung.

Die erste Figur ausgenommen sind alle nach Schnitten mit ZEISS'schem Zeichenapparat hergestellt. Die erste Figur ist mit DELAFIELD's Hämatoxylin, alle übrigen mit HEIDENHAIN's Eisenhämatoxylin gefärbt.

## Tafel 13.

Fig. 1. Optischer Durchschnitt einer Cyste von *Ceratium hirundinella*. Nucleus äußerst feinkörnig, Plasma „grobwabig“, die stäbchenförmigen Chromatophoren (im Durchschnitt rund) sind kaum aufzufinden, deutlich zu sehen ist der aus Amylum bestehende Reservestoff. Totopräparat. DELAFIELD's Hämatoxylin. Tata (= Totis, Ungarn), Großer See 1909. X. 6 n. M. 4—5 Uhr. ZEISS hom. Imm. 2 mm, n. A. 1,30, Comp. Oc. 4.

Fig. 2. Ruhender Kern der beweglichen Form von *Ceratium hirundinella reticulatum* mit grobkörnigem Chromatin, mit zwei von hellem Hof umgebenen Nucleolen. Morgens 4—5 Uhr. ZEISS 2 mm, n. Ap. 1,3, Comp. Oc. 6.

Fig. 3. Zur Teilung einschreitender Kern von *Ceratium hirundinella*. Die Chromatinkörner sind in Reihen angeordnet, 4 Nucleolen. Morgens 4—5 Uhr. ZEISS hom. Imm. 2 mm, n. Ap. 1,3, Comp. Oc. 8.

Fig. 4. Querschnitt von *Ceratium hirundinella* mit stäbchenförmigem Chromatin. Vergr. wie Fig. 3.

Fig. 5. Zur Teilung eingehender Kern von *Ceratium hirundinella*. Die Chromatinkügelchen sind in Reihen angeordnet, mit drei verlängerten Nucleolen. Morgens 4—5 Uhr. Vergr. wie Fig. 3.

Fig. 6. Ruhender Kern von *Ceratium hirundinella*. Von den drei Nucleolen wird eines mit einem Chromatinkügelchen durch Desmose (?) verbunden. Nachts 3—5 Uhr. Hom. Imm. 2 mm, n. Ap. 1,3, Comp. Oc. 4.

Fig. 7. Ruhekern, von den Nucleolen wird eines durch zwei Desmosen (?) mit Chromatinkügelchen verbunden. Auch andere Chromatinkügelchen sind miteinander verbunden, von welchen zwei sich kreuzen. Nachts 3—4 Uhr. Schnitt 2  $\mu$ . Vergr. wie Fig. 3. *Ceratium hirundinella reticulatum*.

Fig. 8. Geteiltes, gegliedertes Spirem von *Ceratium hirundinella reticulatum*, mit der Länge nach gespaltenen Chromatinschleifen. Sagittaler Längsschnitt. Nachts 3—4 Uhr. 2  $\mu$ . Hom. Imm. 2 mm, n. Ap. 1,3, Comp. Oc. 6.

Fig. 9. Geteiltes, gegliedertes Spirem von *Ceratium hirundinella reticulatum*, mit der Länge nach gespaltenen Chromatinschleifen. Zwei Nucleolen kaum zu bemerken. Vergr. wie Fig. 6.

Fig. 10. Äquatorialplatte von *Ceratium hirundinella reticulatum*. Die Chromosomen sind der Länge nach gespalten, an den Rändern sind Unebenheiten zu beobachten. Keine Nucleolen. Nachts 3—4 Uhr. 5  $\mu$ . Hom. Imm. n. Ap. 1,3, Comp. Oc. 6.

Fig. 11. Äquatorialplatte von *Ceratium hirundinella reticulatum*, mit der Länge nach gespaltenen Chromosomen, drei Nucleolen. Vergr. wie Fig. 3.

Fig. 12. Polplatten von *Ceratium hirundinella reticulatum*. Chromosomen der Länge nach gespalten. Transversaler Längsschnitt. Vergr. wie Fig. 3.

Tafel 14.

Fig. 13. Polplatten von *Ceratium hirundinella reticulatum*, mit 26—28 Chromosomen. Morgens 4—5 Uhr. Vergr. wie Fig. 3.

Fig. 14. Polplatten von *Ceratium hirundinella reticulatum*. Zahl der Chromosomen 23—24. Transversaler Längsschnitt. Morgens 4—5 Uhr. Vergr. wie Fig. 3.

Fig. 15. Polplatte von *Ceratium hirundinella reticulatum*. Zählbare Chromosomen etwa 22. Transversaler Längsschnitt. Vergr. wie Fig. 3.

Fig. 16. Polplatte von *Ceratium hirundinella reticulatum*. Transversaler Längsschnitt. Chromosomen gegliedert (Kunstprodukt?). Morgens 4—5 Uhr. Vergr. wie Fig. 3.

Fig. 17. Polplatte von *Ceratium hirundinella reticulatum*. Transversaler Längsschnitt. Morgens 4—5 Uhr. Vergr. wie Fig. 3.

Fig. 18. Dispirema von *Ceratium hirundinella reticulatum*. Das Chromatin wie aus zusammengelegten Chromatinschleifen bestehend, mit je einem Nucleolus. Morgens 4—5 Uhr. Vergr. wie Fig. 3.

Fig. 19. Dispirema von *Ceratium hirundinella reticulatum*. Transversaler Längsschnitt. Mit kaum sichtbaren Nucleolen. Morgens 4—5 Uhr. Vergr. wie Fig. 3.

Fig. 20. Polplatten von *Ceratium hirundinella reticulatum*, der Zelle Querschnitt, der Kerne sagittaler Längsschnitt. Die Zahl der zählbaren Chromosomen ist ungefähr 16, doch konnten in der Abbildung nur etwa 12—13 angegeben werden. Vergr. wie Fig. 3.

*Nachdruck verboten.*  
*Übersetzungsrecht vorbehalten.*

(Aus dem Kaiser-Wilhelm-Institut für Biologie in Berlin-Dahlem.  
Abt. Hartmann.)

## **Protozoenstudien. III.**

Von

**Karl Bělař**, Berlin-Dahlem.

(Hierzu Tafel 15—19 und 5 Textfiguren.)

---

### **Inhaltsübersicht.**

|  | Seite |
|--|-------|
| I. <i>Bodo lacertae</i> . . . . .              | 432   |
| II. <i>Chilomastix aulastomi</i> . . . . .     | 439   |
| III. <i>Collodictyon triciliatum</i> . . . . . | 446   |
| IV. Schlußbemerkungen . . . . .                | 455   |
| V. Literaturverzeichnis . . . . .              | 459   |
| VI. Tafelerklärung . . . . .                   | 460   |

---

### **Einleitung.**

Um in den Pausen, die bei experimenteller Arbeit manchmal eintreten, nicht zur Untätigkeit verdammt zu sein, habe ich zerstreute Beobachtungen zur Cytologie einiger Flagellaten, die ich zum Teil vor dem Kriege gesammelt habe, zusammengestellt, nachgeprüft und ergänzt; die im 3. Teil mitgeteilten Untersuchungen wurden erst in jüngster Zeit begonnen und durchgeführt. Unsere Kenntnisse über die Morphologie und Entwicklungsgeschichte der Protozoen, speziell der Flagellaten, sind noch lange nicht zu der Vollständigkeit gediehen, die es gerechtfertigt erscheinen lassen

könnte, unser Interesse diesen Fragen völlig ab- und der experimentellen Protozoenforschung ausschließlich zuzuwenden. Je mehr Beiträge zur genaueren Kenntnis der Morphologie gesammelt werden, desto mehr gewinnt die weitere kausale Forschung an festem Boden.

### I. *Bodo lacertae* GRASSI.

Trotzdem dieses Flagellat eine „gewisse Rolle in der Geschichte der Protozoenkunde gespielt hat“ (DOFLEIN 1916), so existiert doch seit der v. PROWAZEK'schen Darstellung keine eingehende Beschreibung dieser Form. Nebenbei wird sie zwar oft erwähnt, auch das eine oder andere Stadium abgebildet und zu cytologischen Kontroversen herangezogen. In letzter Zeit hat KUCZYNSKI einige Stadien der Kernteilung abgebildet — bisher die besten Bilder, die wir davon kennen — und eine eingehende Darstellung der Cytologie in Aussicht gestellt. Nachdem diese bis jetzt noch nicht erschienen ist, halte ich es für gerechtfertigt, nachstehende Zusammenfassung der Ergebnisse meiner Beobachtungen, die ich zum größten Teile vor dem Kriege gesammelt habe zu veröffentlichen. Vollständigkeit wurde nur in bezug auf die Kernteilungsvorgänge angestrebt. Die angewandten Methoden waren die üblichen; Fixierung: Sublimatalkohol nach SCHAUDINN, Sublimatalkohol abs. (gesättigte Lösung von Sublimat in absolutem Alkohol + 5proz. Eisessig) FLEMMING'sche und HERMANN'sche Lösung. Färbung: Eisenhämatoxylin nach HEIDENHAIN ev. Nachfärbung mit Fuchsin S oder Lichtgrün, Hämalaun nach MAYER, Methylgrün - Fuchsin - Orange G und Safranin - Lichtgrün. Lebendbeobachtung erfolgte bei Wachsabschluß im gewöhnlichen Deckglaspräparat.

Das Aussehen und Verhalten des lebenden Flagellaten ist schon so oft beschrieben worden, daß ich mir eine neuerliche Darstellung ersparen kann und nur einige Details hinzufüge. Die von v. PROWAZEK angegebene Torsion des Körpers habe ich nicht durchweg beobachtet und halte sie dort, wo sie auftritt, für rein passiv durch den Widerstand des umgebenden Mediums erzeugt. Längere Beobachtung der Tiere zeigt die Richtigkeit der von METZNER vorgebrachten Ansicht, daß nur die Geißelbasis aktiver Bewegung fähig ist und die spiralförmige Drehung des distalen Teiles der Geißel passiv zustande kommt. Speziell an der mächtigen Vordergeißel, die sich manchmal nur sehr langsam bewegt, kann man sehr schön beobachten, wie nur die kegelförmig verdickte Geißelbasis rotiert (aller-

dings auch verschiedene andersartige Bewegungen ausführt, die mehr tastenden Charakter tragen) und den Rest der Geißel in spirale Rotation versetzt. Den zuerst von KUCZYNSKI eingehend geschilderten Ringkörper II (siehe weiter unten) kann man im Leben oft weit deutlicher wahrnehmen, als im gefärbten Präparat; er ist stets zu beobachten und von den sonst ziemlich schattenhaft erscheinenden Strukturen im Innern des Flagellaten die bei weitem am deutlichsten sichtbare. Man kann bei den verschiedenen Deformationen, die der Flagellatenkörper bei seinem Weg zwischen Nahrungsresten usw. hindurch erleidet, deutlich feststellen, daß der Ringkörper II nur bis zu einem gewissen Grade innerhalb der Zelle verschiebbar ist; er wird offenbar durch den Rhizoplasten, der durch ihn hindurchläuft und allerdings im Leben unsichtbar ist, in seiner Lage festgehalten.

Im gefärbten Präparat zeigen die Parasiten verschiedene Erscheinungsformen, sowohl was Form als auch Plasmastruktur anbelangt, deren wesentlichste Vertreter in den Fig. 1—8 abgebildet sind. Wenn wir die allen gemeinsamen Charaktere herausheben, so kann sich die Beschreibung an die Fig. 1, 6 und 8 anlehnen, die ungefähr den Normaltypus repräsentieren. Dieser Normaltypus tritt bei großer Individuenzahl fast ausschließlich auf und zwar um so gleichförmiger (auch was die Dimensionen anbelangt), je größer diese ist. Ist die Kloake resp. der Enddarm nur spärlich bevölkert, so kann man meist mit Sicherheit auf einen relativ großen Prozentsatz abweichend gebauter Individuen, Riesen- und Zwergformen, abgekugelte Tiere usw. rechnen.

Beginnen wir beim Geißelapparat, der von allen Organellen die größte Gleichförmigkeit in der Ausbildung aufweist. Jede Geißel entspringt aus einem in der äußersten Plasmaschicht gelegenen Basalkorn, von dem aus eine freie Fibrille in das Innere des Körpers läuft, die sich fast unmittelbar hinter dem Basalkorn mit ihrem Partner vereinigt; dieser Rhizoplast reicht bis zum Kern und endet seitlich von ihm; ob an der Membran oder frei im Plasma, ist nicht mit Sicherheit zu entscheiden. Nach dem oben geschilderten Verhalten des Ringkörpers II erscheint die Annahme berechtigt, daß der Rhizoplast ein formbestimmendes Element repräsentiert, daher richtiger als Axenstab zu bezeichnen wäre. Den Rhizoplast umgeben in stereotyper Ausbildung stets zwei Ringbildungen. Die erste, die bei jedem Individuum und bei allen Konservierungsmethoden zu beobachten ist, liegt dicht unter den Basalkörnern als ein dünner Ring von geringem Durchmesser, von dem aus ein



spitzzulaufender Trichter am Rhizoplast hinabläuft und allmählich in denselben übergeht. In der Seitenansicht imponiert er als ein Doppelkorn und kann mit den Basalkörnern leicht verwechselt werden, besonders wenn diese bei starker Schrumpfung dem Ringkörper sehr nahe anliegen (Fig. 7). Z. B. zeigen die KUCZYNSKI'schen Abbildungen sowohl die Basalkörner als auch den Ringkörper, jedoch beginnt der Rhizoplast erst am Ringkörper, die Trichterbildung faßt KUCZYNSKI als die beiden Äste des Rhizoplasten auf. Auch v. PROWAZEK läßt letzteren mit einer „konischen Erweiterung“ (= der Trichter), von den Basalkörnern durch eine strukturlose Plasmaform getrennt, beginnen. Ich halte diese Auffassung für nicht zutreffend. Erstens zeigen Präparate, bei denen man die Differenzierung der E.-H.-Färbung nicht zu weit getrieben hat, den Rhizoplasten schon in Kontinuität mit den Basalkörnern (Fig. 1, 2), zweitens zeigt uns das Verhalten der Basalkörner bei der Teilung, daß sie mit dem Ringkörper nichts zu tun haben, sie teilen sich und weichen auseinander, während dieser resorbiert wird (Fig. 9, 10). Die im vorstehenden beschriebene Struktur sei im folgenden als Ringkörper I bezeichnet, sie ist im Leben gleich dem Rhizoplasten unsichtbar, während die Basalkörner, besonders bei der Teilung, manchmal recht deutlich hervortreten.

Weit weniger konstant in Lage, Form und Färbbarkeit ist das zweite Ringgebilde, welches ich als Ringkörper II bezeichne. Schon ALEXEIEFF hat es gesehen, auch stets abgebildet, jedoch falsch interpretiert („deux bâtonnets sidérophiles placés transversalement“). Erst KUCZYNSKI hat seine Form richtig erkannt. In der Seitenansicht erscheint es allerdings oft als ein Doppelstäbchen, etwa wie ein längsgespaltenes Chromosom, quer zum Rhizoplasten gelagert. Kombiniert man aber die verschiedenen an fixiertem Material gewonnenen Bilder mit der Lebendbeobachtung, so erkennt man, daß es sich nur um ein einheitliches Gebilde handelt, welches am besten mit einem Serviettenring zu vergleichen ist. Während diese Struktur im Leben sehr gleichmäßig in allen Individuen zu beobachten ist, zeigt sie im Präparat recht verschiedene Ausbildung: von den wulstigen Rändern ist manchmal nur der eine gefärbt, manchmal erscheinen beide vereinigt, manchmal ist statt des Ringkörpers nur eine Vakuole sichtbar. (Fig. 8; in dem betreffenden Präparat zeigten alle Tiere dasselbe Bild!) Was seine Lage anbelangt, so scheint er zwar längs des Rhizoplasten zwischen Ringkörper I und Kern innerhalb weiter Grenzen verschiebbar zu sein, jedoch nicht seitlich, was schon oben bei der Beobachtung hervorgehoben wurde und ohne

weiteres verständlich erscheint, wenn man dem Rhizoplasten eine relative Festigkeit zubilligt. Die Bedeutung dieser offenbar konstanten (KUCZYNSKI hat sie auch in den Cysten beobachtet) Struktur ist völlig rätselhaft. KUCZYNSKI homologisiert sie mit dem Blepharoplasten der Trypanosomen. An Protozoen vergleichende Anatomie zu treiben, ist an sich eine recht undankbare Aufgabe, wie sich weiter unten bei der Besprechung des Parabasale ebenfalls zeigen wird; wenn man, wie es meistens der Fall ist, über die Funktion der in Frage kommenden Gebilde — hier des Blepharoplasten der Trypanosomen und des Ringkörpers II bei *Bodo* — so gut wie nichts weiß und sie keine Ontogenese haben, dann hat man nur morphologische Übereinstimmung (in unserem Falle: Lage zum Geißelapparat und selbständige Teilung; hingegen ist das färberische Verhalten, auf welches man, solange man keine besseren Erkenntnismittel hat, doch auch einigen Wert legen kann, gründlich verschieden) als einzigen Anhaltspunkt und es bleibt mehr oder weniger Geschmackssache, welchem tertium comparationis man den Vorzug geben will. Weiter mich darüber auszulassen, halte ich für überflüssig, weil der Objektivitätswert solcher Homologisierungen nach dem oben Gesagten doch nur ein höchst zweifelhafter sein kann; denn wie will man ihn nachprüfen?

Der stets kugelförmige Kern ist ebenfalls ziemlich konstant an der Grenze zwischen erstem und zweitem Drittel des Körpers gelegen. Seine Struktur bleibt sich innerhalb gewisser Grenzen immer gleich: der Kernraum, von einer zarten Membran umgeben, ist mit Chromatinbrocken mehr oder weniger dicht erfüllt, seitlich an irgendeiner Stelle der Kernmembran anliegend befindet sich ein kleiner sphärisch abgeplatteter Binnenkörper. Variabel ist die Struktur des Chromatins. Es finden sich alle Übergänge zwischen kompakter, fast strukturloser Anordnung (Fig. 6, 7, 8) und Konzentration auf einige wenige grobe Brocken, die durch zarte Brücken verbunden sind (Fig. 2, 4). Auch hier zeigt sich dieselbe Erscheinung, die schon oben erwähnt wurde: bei großer Individuenzahl, wo der „Normaltypus“ fast ausschließlich auftritt, ist auch die Struktur in allen Kernen (natürlich von den sich teilenden abgesehen) dieselbe und zwar meist so wie auf der Fig. 3, 5, 6. Bei geringer Individuenzahl und starkem Hervortreten der aberranten Typen zeigen sich auch öfters Kerne vom Typus der Fig. 2 u. 8. Riesen- und abgekugelte Form weisen fast stets diese Kernstrukturen auf. — Der Verlauf der Kernteilung zeigt, daß das Chromatin in den Brocken

zu erblicken ist und der Binnenkörper damit nichts zu tun hat. Er färbt sich auch mit BIONDI-Lösung rötlich.

Als letztes der geformten Gebilde im Körper unseres Flagellaten bleibt noch das Parabasale (= Reservestoffkörper oder „Chromidium“) zu besprechen übrig. Es sei hier dieser Ausdruck gewählt, weil er ziemlich nichtssagend ist und die hier vorliegende Struktur auch tatsächlich mit den Parabasalien der Poly- und Hypermastiginen eine gewisse morphologische Übereinstimmung aufzuweisen hat.

Auch er folgt, was die Variabilität seiner Erscheinungsform anbelangt, derselben Regel wie Kern und Organellen; im Normaltypus erscheint er stets als mehr oder weniger wurstförmiges Gebilde, dem Kern dicht anliegend. Die von anderen Autoren angegebenen Farbreaktionen kann ich völlig bestätigen. Von den verschiedenen Erscheinungsformen, die man in dem vom „Normaltypus“ abweichenden Individuen antrifft, seien nur einige herausgegriffen, weil sie deutlich zeigen, daß das Parabasale eine Struktur mit nicht streng fixiertem Formwechsel ist, der ihm jedoch nach seinem Verhalten bei der Teilung nicht völlig abgesprochen werden darf und weil m. E. bisher auf diese Stadien zu wenig Gewicht gelegt wurde (mit Ausnahme von v. PROWAZEK, der allerdings eine falsche Deutung daran knüpfte). Es lassen sich zwei Gruppen von Vorgängen unterscheiden: 1. ein Zerfall der Parabasale in kleinere Brocken (es kann sich natürlich ebensogut um Auf- wie um Abbau derselben handeln) (Fig. 2 u. 5), 2. das Auftreten einer oder mehrerer Vakuolen, die mit zunehmendem Wachstum das Parabasale zu einem dem Kern oft täuschend ähnlichen Bläschen aufblähen (Fig. 4). Diese Stadien sind besonders häufig bei abgekugelten Tieren zu finden und ein Vergleich mit der v. PROWAZEK'schen „Autogamie“-Serie zeigt, daß ihm offenbar solche Individuen vorgelegen haben. Bei diesen bläschenförmigen Parabasalien kann man auch gewöhnlich Vorwölbungen (Fig. 4, an der über dem Kern liegenden Stelle der Peripherie) beobachten, die eventuell zugunsten einer Abstoßung von Substanz ins Plasma gedeutet werden können. Sehr wahrscheinlich führen diese Stadien zu den Formen hin, denen das Parabasale völlig fehlt, die ich aber im Gegensatz zu v. PROWAZEK nur sehr selten und nie als normal spindelförmige, sondern stets als abgekugelte Formen auffand. Nach KUCZYŃSKI fehlt das Parabasale auch in den Cysten. Die oben beschriebenen Vorgänge können wohl mit Sicherheit als der Ausdruck lebhafter Stoffwechselvorgänge am Parabasale gedeutet werden, wodurch die Bedeutung dieser Struktur als Stoffwechselprodukt von gewisser Formbeständigkeit endgültig erwiesen

erscheint. Auf die von verschiedenen Seiten versuchten Homologierungen mit anderen Flagellatenorganellen einzugehen, erscheint mir aus den oben auseinandergesetzten Gründen für überflüssig.

Was das ungeformte Cytoplasma anbelangt, so sei nur auf seine wechselnde Struktur (vgl. die Fig. 2, 3 u. 5) hingewiesen.

**Teilung.** Da sich im Lauf meiner Untersuchungen Fragen aufgeworfen haben, die das fixierte Präparat nicht beantworten konnte, habe ich die Teilung auch im Leben untersucht, was relativ leicht gelingt, da die sich teilenden Tiere eine herabgesetzte Beweglichkeit zeigen und es außerdem nicht schwer fällt, solche an Stellen aufzusuchen, wo sie durch Kotteile oder Schleimhautfetzen in einen engen Raum gebannt sind. Die auf Fig. 26 a—p wiedergegebene Serie wurde so unter Zuhilfenahme des Zeichenapparates — soweit dies möglich war — gezeichnet. Um Wiederholungen zu vermeiden, werde ich mich jedoch bei der Schilderung der Teilung vorwiegend an das gefärbte Präparat halten und die Beschreibung nur gelegentlich, wenn es nötig ist, durch die Resultate der Lebendbeobachtung ergänzen.

Die ersten Veränderungen, durch die der Beginn der Teilung kenntlich wird, machen sich in gleicher Weise sowohl am Kern als auch am Geißelapparat bemerkbar. Die Basalkörner rücken etwas auseinander, der Rhizoplast wird samt dem Ringkörper I resorbiert und jedes Basalkorn teilt sich in zwei Teile, wobei das eine Teilstück die alte Geißel beibehält, das andere die entsprechende Geißel sofort zur Ausbildung bringt (Fig. 9, 10, 11). Der Kern ist — offenbar infolge Wegfalls des stützenden Rhizoplasten<sup>1)</sup> — dicht an den Ringkörper II herangerückt. Die Spindelgestalt des Flagellaten hat aus derselben Ursache einen breit birnförmigen Platz gemacht. Im Kern sammelt sich das Chromatin zu einer großen Anzahl von Körnern an, die wir nach Analogie anderer Kernteilungen und ihrem weiteren Verhalten nach als Chromosomen bezeichnen dürfen (Fig. 10, 11). Ihre Zahl auch nur annähernd zu bestimmen, ist mir nicht gelungen. Gelegentlich wurden in den frühesten Prophasestadien spiremähnliche Strukturen beobachtet (Fig. 9).

Da die Teilung des Geißelapparates sich räumlich unabhängig — wenn auch zeitlich streng koordiniert — von der Kernteilung abspielt, sei sie zusammenhängend geschildert. Die Basalkornpaare rücken immer weiter auseinander, die neuen Geißeln wachsen ver-

<sup>1)</sup> Als Kuriosum sei mitgeteilt, daß TAYLOR auch diese Struktur als Neurofibrille deutet.

hältnismäßig rasch. Der Ringkörper II ist, wie schon oben erwähnt, erhalten geblieben und durch das Aufwärtsrücken des Kerns dicht unter die Pellicula geraten; er schließt jetzt die Basalkörner ein (Fig. 26 c). Je weiter diese nun auseinanderrücken, desto mehr zerran sie auch den Ringkörper, der infolgedessen elliptisch wird, in die Länge (Fig. 26 d, e), bis er schließlich in zwei Halbringe zerfällt (Fig. 26 f, g, h), die sich allmählich zu neuen Ringkörpern schließen. Wenn in der Folge die Zellteilung nahezu vollendet ist, so bilden die Basalkörner wieder Rhizoplasten aus (Fig. 23, 24) gleichzeitig gelangt auch der Ringkörper I zur Ausbildung und der Ringkörper II rückt an den ihm zukommenden Platz. (Man sieht auf den Fig. 26 o und p, wo offenbar der Rhizoplast noch nicht bis zum Kern reicht, die starke Verschiebbarkeit des Ringkörpers II.)

Durch sein Verhalten bei der Teilung ist die Ansicht KUCZYŃSKI'S erwiesen, daß der Ringkörper II ein konstantes Zellorganell ist. KUCZYŃSKI'S Darstellung (die er allerdings selbst als vorläufige Skizze bezeichnet): „während der Vorbereitung zur Teilung zieht sich dieser Körper noch mehr zusammen, um sich unabhängig (von mir gesperrt) vor der Neubildung der Geißeln oder der Lage der Basalkörner der Quere nach durchzuschnüren“ ist jedoch als nicht zutreffend zu bezeichnen. Schon die Betrachtung einer großen Anzahl von fixierten Teilungsstadien (Fig. 10—17) zeigt sein strenges Gebundensein — örtlich und zeitlich — an die Teilung des Geißelapparates, noch mehr tritt dies aber bei der Lebendbeobachtung hervor. Letztere scheint mir noch mehr zu zeigen, nämlich, daß der Ringkörper sich überhaupt nicht autonom „teilt“, sondern passiv auseinandergezerrt wird. Über dies Letztere ließe sich allerdings noch streiten; ob es aber der Mühe wert ist?

Verfolgen wir die Kernteilungsphänomene weiter. Die Chromosomen rücken allmählich nach der Kernmitte zusammen und bilden daselbst einen dicken Klumpen. Bald darauf sieht man in der Richtung der Kernteilungsachse an beiden Polseiten dieses Klumpens zwei Körnchen herausrücken, die mit diesem durch je eine winzige Halbspindel verbunden sind: offenbar Centriolen und Zentralspindel (Fig. 12, 13). Diese erreichen bald die Kernmembran (Fig. 14, 15) und der Klumpen bildet sich zu einer Äquatorialplatte aus, welche sich spaltet (Fig. 16). Die Tochterplatten rücken auseinander (Fig. 17, 18) und werden kappenförmig — wobei scheinbar der Polteil der Spindel samt Centriol in sie einbezogen werden (Fig. 19) — und die Kernmembran löst sich auf. Zwischen den beiden Tochterplatten, welche neue Membranen um sich ausbilden und so zu den

Tochterkernen werden, dehnt sich noch eine Zeit lang dichteres Plasma — Spindelreste — aus. Die Rekonstruktion geht in der bei vielen Protozoen üblichen Weise vor sich, daß sich die anfangs ganz dicht verklumpten Tochterkerne auflockern, bis schließlich ein kleiner Kern vom „Normaltyp“ resultiert (Fig. 22—24). Damit ist die Kernteilung beendet. Über die Teilung des Parabasale sowie die Zellteilung ist weiter kein Wort zu verlieren. Bemerkenswert wäre höchstens noch der ziemlich häufige Befund bei der Lebendbeobachtung, daß sich eine einzige große Vakuole in der Zellmitte ausbildet, die auf eines der beiden Tochtertiere übergeht, vielleicht der Ausdruck von Konsistenzänderungen im Plasma.

Und schließlich noch eines. Wer sich meine Figuren 14, 15, 16, 18 genauer betrachtet und mit dem Text vergleicht, dem wird es auffallen, daß jene durchaus nicht so eindeutig sind, als dieser glaubhaft zu machen sucht. Die Fig. 14—15 scheinen z. B. vielmehr zu zeigen, daß die Basalkörner als Centriolen an den Spindelpolen fungieren. Und tatsächlich wurde die Kernteilung von *Bodo lacertae* bisher immer so beschrieben (v. PROWAZEK, ALEXEIEFF, KUCZYNSKI). Abgesehen davon, daß die Lebendbeobachtung die Richtigkeit meiner Darstellung einwandfrei erweist, kann ich aber auch diese zweifel-erregenden Figuren befriedigend erklären. Die Ausstriche, in denen die betreffenden Stadien vorkamen und auf die sie auch beschränkt waren, sind mit Sublimat + Alkohol absol. fixiert worden. Und diese Fixation, so vorzüglich sie in anderer Hinsicht ist (siehe die Fig. 1, 2, 4, 8, 9), hat die Eigentümlichkeit, daß bei ihr die Pellicula besonders stark zum Schrumpfen gebracht wird (man vgl. überhaupt die Fig. 26 mit den Fig. 1—24, erstere ist mit Oc12 letztere mit Oc18 gezeichnet, trotzdem sind fast alle gleich groß). Der Effekt ist natürlich der, daß bei den Teilungsstadien, denen die formgebende Stütze des Rhizoplasten fehlt, die Pole der Kernteilungsfiguren der Pellicula dicht anliegen und bei den geringen Dimensionen des Objektes nur selten von den Basalkörnern optisch zu trennen sind. Fixierungsflüssigkeiten, die keine so starke Schrumpfung zur Folge haben, ergeben jedoch Bilder, die mit der Lebendbeobachtung gut überstimmen (Fig. 16, 17).

## II. *Chilomastix aulastomi* ALEXEIEFF ego emend.

Unter den zahlreichen Protozoen, die der Enddarm des Pferdeegels (*Aulastomum gulo*) beherbergt, ist dieses Flagellat häufig anzutreffen, wenngleich nur selten in größerer Zahl. Die relativ be-

trächtliche Größe dieser Form läßt sie als besonders geeignetes Untersuchungsobjekt erscheinen; die Morphologie des Genus *Chilomastix* (und der nahestehenden *Fanapepea* usw.) ist bis jetzt nur ungenügend bekannt, nicht zuletzt infolge der geringen Dimensionen des am meisten untersuchten *Chilomastix mesnili* aus dem menschlichen Darm. Speziell gilt dies von der Kernteilung.

Die einzige Darstellung der Kernteilung hat ALEXEIEFF, der auch unsere Form beschrieben hat<sup>1)</sup>, in einer kurzen Mitteilung über *Chilomastix caulleryi* gegeben und mit drei Abbildungen (Pro-, Meta- und Telophase) belegt.

Alle sonstigen Kernteilungsstadien von *Chilomastix*, die sich in der Literatur, speziell der medizinischen — finden, sind überhaupt keine (meist wird amitotische Kerndurchschnürung angegeben). Und die letzte Arbeit über *Chilomastix mesnili* von KOFOID u. SWEZY bringt außer eingehender morphologischer Beschreibung der vegetativen Individuen nur eine Schilderung der Kernteilung in der Cyste. Es erschien daher eine neuerliche Untersuchung an diesem günstigen Objekte nicht überflüssig. Die Darstellung wird sich vorwiegend auf die Kernteilung beschränken. Von der Literatur werde ich nur die mir für die Morphologie wesentlich erscheinenden Arbeiten (ALEXEIEFF, KOFOID u. SWEZY) berücksichtigen.

Die angewandte Technik ist die im ersten Abschnitt angegebene.

Beobachtungen am lebenden Objekt: Das Bild, welches uns Fig. 27 gibt, bedarf nur wenige Worte der Ergänzung. Kern, Cytostom samt Stützfibrille und Geißel, sowie die Basalkorngruppe sind stets deutlich sichtbar. Der Körper des Flagellaten hat eine ziemliche Formbeständigkeit, die besonders in der vom Cytostom gegen das Hinterende ziehenden rechtsläufigen Spiralfurche zum Ausdruck kommt. Die Mündung des Cytostoms ist im Leben nicht sichtbar, auch konnte ich nichts beobachten, was die Auffassung der Cytostomgeißel als undulierende Membran berechtigt erscheinen ließe.

Im fixierten Präparat (Fig. 28, 29) erscheint das Flagellat dem Leben gegenüber nur ein wenig verändert, besser gesagt, die Lebendbeobachtung kann hier nicht mehr zeigen als das Präparat. Die

<sup>1)</sup> Er hält sie allerdings auch für *Chilomastix caulleryi*, wie er denn überhaupt die meisten Parasiten des Pferdegedarms für ursprüngliche Froschparasiten ansieht, die, nachdem ihr erster Wirt vom Egel gefressen worden, im Darne des letzteren ihre Existenz ungestört weiterführen. Solange dafür nicht der experimentelle Beweis erbracht ist, muß man diese Ansicht, die nach allem, was wir über Spezifität von Parasiten wissen, ziemlich unwahrscheinlich erscheint, ablehnen; daher habe ich auch die Spezies neu benannt.

Körperform bleibt völlig erhalten. Im Plasma wird außer den schon im Leben sichtbaren Nahrungsvakuolen eine feine Alveolarstruktur sichtbar. Der Kern weist eine durch Anlagerung färbbarer Substanz dick erscheinende Membran auf, sein Inneres erfüllt ein feines Wabenwerk. An einer oder mehreren Stellen ist der chromatische Wandbelag zu größeren Klumpen geballt, besonders häufig tritt an dem den Geißeln genäherten Kernpol eine solche Ansammlung auf, die den Kern etwas verwölbt — das „Karyosom“ der früheren Literatur (ausgenommen KOFOID u. SWEZY).

Am vorderen Körperende liegen vier Basalkörner, von denen die drei freien und die Cytostomgeißel entspringen. Am Cytostom ist schließlich außer der schon im Leben sichtbar gewesenen Stützfibrille (Parabasale nach KOFOID u. SWEZY), die bis zu dessen Grund verläuft und mit einer kreisförmigen Schleife endigt, eine nicht so stark färbare Leiste (Parastyl nach KOFOID u. SWEZY) sichtbar, die den vorderen Cytostomrand bogenförmig umfaßt und der Stützfibrille gegenüberliegend dem Cytostom entlang abwärts zieht; sie reicht nicht so weit hinab wie die Stützfibrille und endigt unter allmählicher Verjüngung (im Gegensatz zu jener, die in ihrem ganzen Verlaufe gleichmäßig dick bleibt). Bei genauerem Zusehen läßt sich feststellen, daß dieses Parastyl nicht wie die Stützfibrille im Innern des Körpers, sondern an der Oberfläche verläuft. Im Gegensatz zu KOFOID u. SWEZY muß ich hervorheben, daß Stützfibrille und Parastyl weder untereinander noch mit einem der Basalkörner in Verbindung stehen; sie endigen vorn wie hinten frei im Plasma.

KOFOID u. SWEZY beschreiben bei *Chilomastix mesnili* außer den hier angeführten noch eine Reihe weiterer Strukturen: am Kern ein „central carysome“ im Innern sowie ein außen angelagertes „centrosome“, beide durch einen „internal rhizoplast“ verbunden, am Cytostom eine „peristomal fiber“, die von einem der Basalkörner ausgehend am Cytostom hinab — und wieder hinanläuft, um schließlich am Ausgangspunkt zu endigen. Von all diesen Strukturen ist bei unserem Objekt nicht das Geringste wahrzunehmen, auch möchte ich, was wenigstens einige derselben anbelangt, einiges Bedenken äußern, daß sie tatsächlich als permanente Strukturen vorkommen, wenn man in Betracht zieht, daß *Chilomastix mesnili* ein gut Teil kleiner ist als *Chilomastix aulastomi* (9–15  $\mu$  gegen 25–35  $\mu$ ).

Bei der Gelegenheit erscheinen auch einige Worte der Kritik an dem von KOFOID u. SWEZY aufgestellten Begriff des „neuromotor system“ bei Flagellaten und Ciliaten angebracht. „We use the term neuromotor system to designate the integrated fibrillar system



uniting the caryosome, centrosome, blepharoplasts (= Basalkörner) flagella and other motor organs, and the fibers of the oral region into one continual, structural unit" (K. u. S. 1920).

Also eine Art intercelluläres Nervensystem, welches, wie ich einer anderen Publikation entnehme, vorwiegend motorisch-koordinierende Funktion hat.

Hierzu möchte ich folgendes bemerken:

Erstens ist für eine ganze Reihe dieser Strukturen die stützende, formgebende Funktion schon durch einfache Beobachtung direkt zu erweisen (ich erinnere an den Rhizoplasten von *Bodo lacertae*, übrigens sagen auch KOFOID u. SWEZY „it ist not improbable that the cyto-stomal region [ergänze: of the n. s.] has also [sic!] holdfast functions“). Ferner hat KOLTZOFF für zahlreiche fibrilläre Strukturen sowohl bei Metazoen- wie Protozoenzellen die formgebende stützende Funktion durch eine Reihe von Experimenten einwandfrei nachgewiesen.

Wenn aber für eine Struktur eine Funktion sicher nachgewiesen ist, so erscheint es unberechtigt, ihr weitere Funktionen zuzuschreiben, wenn nicht hinreichende Beweise für diese vorliegen.

Zweitens gibt es eine ganze Reihe von Formen mit koordinierter Aktion der Bewegungsorganellen, die kein Nervensystem besitzen: z. B. das im nächsten Kapitel behandelte *Collodictyon*.

Daß mit der Vorstellung, die wir uns von einem solchen Nervensystem machen müssen, es nicht ganz vereinbar ist, daß es bei der Teilung, wie wir unten sehen werden, resorbiert und oft erst nach vollendeter Teilung neugebildet wird, mag noch hingehen.

KOFOID hat wohl selbst empfunden, daß die Beweise, die er für die nervöse Funktion der fibrillären Apparate anführt, als rein spekulativ auf morphologischen Befunden aufgebaut, nicht genügend stichhaltig sind. Und so hat sein Schüler TAYLOR an *Euplotes patella* den experimentellen Beweis hierfür zu erbringen gesucht. Bei diesem Ciliat erscheint das Nervensystem als eine Reihe von Protoplasmaverdichtungen, unter jedem Cirrus gelegen, verbunden durch eine Fibrille, die längs der Peristommembranelle verläuft; eine stärkere Plasmaverdickung wird als ein motorisches Centrum des ganzen Systems angesprochen. TAYLOR hat nun diesen fibrillären Komplex an verschiedenen Stellen durchschnitten (ohne dabei den Kern zu verletzen!) und konstatierte dabei jedesmal eine mehr oder weniger weitgehende Störung der Koordination der Bewegung der diversen Cirren mit den Membranellen. Einschnitte, die den Fibrillenkomplex nicht trafen, hatten keine Störungen zur Folge. TAYLOR hält durch die Versuche die nervös koordinierende Funktion des Nerven-

systems für bewiesen. Es läßt sich aber leicht zeigen, daß die KOLTZOFF'sche<sup>1)</sup> Auffassung des Fibrillenapparates als Stützgebilde, als Versteifungen sich mit dem Resultat der TAYLOR'schen Experimente ganz leicht in Einklang bringen läßt. Wenn man bei einem Wagen den Langbaum, der die beiden Radachsen verbindet, sowie diese selbst durchsägt, so wird die koordinierte Bewegung der vier Räder dieses Wagens erheblich gestört sein, trotzdem wird niemand dem Langbaum und den Radachsen eine übertragend leitende, sondern nur eine mechanische verbindende Funktion zubilligen können.

Teilung: Die Teilung konnte nur an fixiertem Material untersucht werden. Die ersten Veränderungen, die deren Beginn kennzeichnen, finden am Kern statt (Fig. 29, 30). Aus dem seinen Innenraum erfüllenden Wabenwerk, differenzieren sich allmählich 20—24 (die genaue Zahl ist nicht festzustellen) stark färbbare Gebilde von sphärischer oder stäbchenförmiger Gestalt heraus: die Chromosomen. Hand in Hand damit geht ein Schwinden des chromatischen Wandbelages, was aber nach den bei anderen Protistenmitosen gemachten Erfahrungen keineswegs dazu berechtigt, die Entstehung der Chromosomen damit in genetischen Zusammenhang zu bringen, welcher natürlich ebensowenig abzuleugnen ist. Sobald die Chromosomen im Kern deutlich ausgebildet sind, beginnen die ersten Veränderungen im Cytoplasma; der Kern rückt zunächst dicht an die Basalkorngruppe heran und das Cytostom mit allen seinen Strukturen (Stütz fibrille und Parastyl) wird resorbiert (Fig. 30). Nunmehr wandert der Kern in das Innere des Körpers. Die Basalkorngruppe, die an Größe stark abgenommen hat und nunmehr als Doppelkorn imponiert (man kann aber nicht mit Bestimmtheit sagen, daß es sich tatsächlich nur um zwei Körner handelt) hat sich von den Geißeln getrennt und haftet der Kernmembran außen an. Gleichzeitig verliert das Flagellat seine birnförmige Gestalt und wird nach und nach kugelig; der schwanzförmige Zipfel am Hinterende bleibt allerdings noch lange Zeit erhalten (Fig. 33). Die Geißeln werden nach und nach abgeworfen (Fig. 31—34, 37, 38).

Schon während der oben geschilderten Ortsverlagerung des Kernes wandern die Chromosomen nach der Kernmitte und ordnen sich — scheinbar um eine Plasmaverdichtung gruppiert, die möglicherweise einen Teil der lokomotorischen Komponente repräsentieren.

<sup>1)</sup> TAYLOR scheint, nebenbei bemerkt, die Arbeiten KOLTZOFF, die einzigen, in denen solche Fibrillenstrukturen bei Protozoen exakt analysiert werden, nicht zu kennen: er erwähnt sie weder im Text, noch sind sie in seinem sonst recht vollständigen Literaturverzeichnis zu finden.

tiert (Fig. 31, 32) — dort zu einem Haufen an. Der auf ein Doppelkorn reduzierte Basalkörper (da man auf diesem Stadium nicht entscheiden kann, aus wieviel Elementen er sich zusammensetzt, sei die Basalkorngruppe in Hinkunft mit diesem Namen bezeichnet) teilt sich und die Teilstücke wandern an der Kernmembran auseinander, bis sie einander diametral gegenüber liegen (Fig. 31, 32). Sodann rücken sie von der Kernmembran ab und bilden hierbei Halbspindeln aus (Fig. 33, 34). Sobald diese eine gewisse Größe erreicht haben, greift ihre Wirkungssphäre auch auf den Kern über (ich gebrauche diese bestimmte Ausdrucksweise nur der leichteren Darstellung halber): dieser nimmt eine breit ellipsoide Gestalt an, der Chromosomenhaufen plattet sich ab und die Faserung der Halbspindel durchsetzt den Kern (Fig. 34). Während bis zu diesem Punkt ein auffallender gradueller Unterschied in der Färbbarkeit zwischen dem Kern und der Halbspindel bestanden hat, hört derselbe nach Ausbildung der intranucleären Spindel auf, die Teile der Kernmembran, die diese von den Halbspindeln bisher geschieden haben, sind getrennt, und die Teilungsfigur zeigt jetzt, im Stadium der Metaphase, das Bild der Fig. 35, 36, 37: eine scharf zugespitzte Spindel mit ausgeprägten Centriolen, die die Zelloberfläche berühren (Fig. 37), die Basalkörper, gegen das Cytoplasma durch eine stark färbbare Grenzschicht deutlich abgegrenzt und im Äquator etwas ausgebuchtet.

Die Anaphase setzt nunmehr mit der Teilung der Äquatorialplatte ein (das Verhalten der Chromosomen kann man hierbei nicht verfolgen) und die Tochterplatten, die völlig kompakt geworden sind, rücken auseinander (Fig. 38). Je mehr ihr gegenseitiger Abstand zunimmt, desto mehr nehmen die Tochterplatten an Volumen und Abgrenzung gegen die übrigen Teile der Teilungsfigur zu, die zwischen ihnen gelegenen Partien der färbbaren Grenzschichten schwinden (Fig. 39, 40) und schließlich wandeln sich die Tochterplatten in junge Tochterkerne um, die — noch abgeplattet, aber mit deutlicher Kernstruktur — mit den zugehörigen Polteilen der Spindel zusammenhängen (Fig. 41, 42). Die weiteren Kernumwandlungen bieten nichts Bemerkenswertes, allmähliche Volumzunahme und Abnahme der Färbbarkeit im Kerninnern geben den Kernen allmählich — meist erst nach vollendeter Zellteilung — ihren normalen Habitus wieder.

Es erübrigt noch die Neubildung der Geißeln und des Cytostoms zu verfolgen. Erstere kann schon auf dem Stadium der Metaphase einsetzen (Fig. 35). Die Geißeln wachsen aus den Centriolen, also dem Basalkörper, aus; zunächst in Zweizahl (Fig. 35, 39, 40). In

der Anaphase teilt sich der Basalkörper und aus einem der Teilstücke wächst eine schraubig gekrümmte Fibrille ins Innere: die Stützfibrille; sobald sie ihre definitive Länge erreicht hat, löst sie sich von dem Basalkorn los. Dieses teilt sich nochmals und bildet die dritte freie Geißel sowie die Cytostomgeißel aus. Die Entstehung des Cytostoms konnte ich nicht verfolgen, das Parastyl scheint aber auch von dem die Stützfibrille bildenden Basalkorn aus zu entstehen (Fig. 43 rechts Fig. 44). Nach völliger Ausbildung von Geißeln und Cytostom wird der Spindelrest rückgebildet, so daß die Kerne wieder dicht an die Geißelbasis zu liegen kommen und das Flagellat — inzwischen hat ja die Zellteilung (Fig. 42, 43) stattgefunden — hat den Habitus der vegetativen Form angenommen.

Wenn wir die obige Schilderung noch einmal kurz resümieren, so können wir sagen, daß hier ein Kernteilungstypus vorliegt, der in seinem ganzen Habitus wie in manchen Punkten von den sonst bei Flagellaten beobachteten Typen nicht unerheblich abweicht. Die Basalkörner fungieren als Centren<sup>1)</sup>, die Spindel wird zunächst extranucleär angelegt und greift erst dann auf den Kern über. Zumindest ist dieser Teilungsmodus sehr verschieden von dem der sonst meist als ziemlich nahestehend betrachteten Trichomonaden, bei denen ja nach den letzten Angaben KUCZYNSKI's ein intranucleäres Teilungscentrum wohl anzunehmen ist; wieder ein schönes Beispiel, wie sehr uns diese Seite der Morphologie in der Systematik im Stiche läßt (ich erinnere an ähnliche Fälle: *Prowazekia* — *Trypanoplasma*, *Euglena* — *Scytomonas*, *Eudorina* — *Chlorogonium* u. a. m.). Am nächsten steht der hier vorliegende Typ dem GRASSI'schen bei *Hypermastiginen*, wie wohl er sich auch von ihm durch die getrennte Anlage der Spindel unterscheidet; vielleicht verläuft die Kernteilung von *Cercobodo* — sie ist noch nie genau untersucht worden — noch am ähnlichsten.

Schließlich möchte ich noch darauf hinweisen, daß die hier geschilderte Neubildung der Geißeln und der Cytostomstrukturen eine schöne Stütze für die — wenigstens teilweise — Berechtigung der seinerzeit von HARTMANN und v. PROWAZEK entwickelten Anschauungen über die Entstehung der Geißeln von der lokomotorischen Komponente aus liefert.

<sup>1)</sup> Ich bin ja an die Untersuchung mit einer gewissen Voreingenommenheit herangetreten; ich glaubte, das Teilungszentrum im Kern suchen zu müssen. Jedoch kam ich schließlich, nicht zuletzt durch den frappierenden Befund, daß sich nach Beginn der Teilung keine Basalkörner an der Geißelbasis nachweisen lassen, zu der hier vorgetragenen Anschauung.

Wesentlich verschieden von dem hier beschriebenen ist der Kernteilungsvorgang, wie er sich nach KOFOID u. SWEZY in der Cyste von *Chilomastix mesnili* abspielt. Eingeleitet wird er durch Teilung der Basalkörner und des der Kernmembran außen anliegenden Centrosoms. Das alte Cytostom geht auf eines der Tochtertiere über, das andere bildet diese Struktur schon in der Prophase vom Basalkörper ausgehend aus. Die Chromosomen erscheinen als fünf klumpige Gebilde (die Prophase ist nicht beobachtet worden). Es bildet sich eine intranucleäre Spindel aus, die Centriolen — durch eine deutliche Desmose verbunden — liegen jedoch außen an. Der weitere Verlauf der Teilung zeigt keine bemerkenswerten Abweichungen von dem gewöhnlichen Schema. Sollte diese Beschreibung in allen Punkten Bestätigung finden, so läge bei *Chilomastix* ein sicher gestellter Fall ziemlich weitgehender Differenz im Kernteilungsverlauf bei zwei verschiedenen Entwicklungsstadien ein und desselben Protisten vor; solcher Fälle gibt es nicht allzu zahlreiche und sie können vielleicht einen Angriffspunkt zur kausalen Erforschung des Teilungsvorganges bieten; natürlich erst dann, wenn man über die physikalisch-chemischen Konstitutionsunterschiede zwischen freiem Flagellat und Cyste etwas weiß.

### III. *Collodictyon triciliatum* CARTER.

#### Technische Bemerkungen.

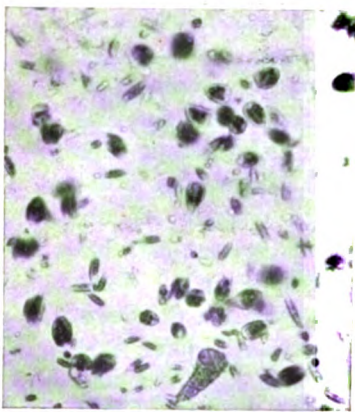
Dieses Flagellat trat in einzelnen Exemplaren in einer Wasserprobe aus dem Grunewaldsee auf. Nach einigen vergeblichen Versuchen mit Agarnährböden gelang die Kultur leicht in filtriertem Teichwasser oder KNOP'scher Nährlösung (0,05 Proz.). Als Futterdiente *Gonium pectorale*, *Chlorella* sp., am besten jedoch *Chlorogonium euchlorum*, welches ich ja auch zum Füttern anderer Protozoen (*Actinophrys sol*, *Arcella*) mit Erfolg verwende. Zu Futterzwecken wird diese Volvocinee nach HARTMANN auf KNOP-Agar<sup>1)</sup> in Petrischalen an einem Nordfenster oder der HARTMANN'schen Nitalampe (siehe Praktikum der Protozoologie) kultiviert; je nach Bedarf wird dann ein Teil der Platte mit ein paar Tropfen des Kulturmediums abgespült und diese Aufschwemmung der Flagellatenkultur zugefügt. Die Vermehrung ist in solchen Kulturen anfangs sehr stark und nimmt nach 3—4 Tagen ziemlich rasch ab; jedoch sind oft selbst noch nach Monaten vereinzelte Flagellaten in der Kultur nach-

<sup>1)</sup> 0,5—1 g Agar + 100 cm<sup>3</sup> KNOP'sche Nährlösung 0,05 Proz.

zuweisen. (Da sich in den Schalen ja stets nach längerer Zeit Chlorellen entwickeln, so fehlt es nicht an Futter.)

Die Herstellung von Präparaten war nicht ganz leicht; da *Collodictyon* keine klebrige Oberfläche hat, so waren die üblichen Methoden zur Gewinnung von Deckglaspräparaten unbrauchbar, und auch mit der Centrifuge konnte ich mir anfangs nicht helfen, da die Flagellaten zwar im Leben sedimentiert werden können, nicht aber nach der Fixation. Schließlich führte folgende Anordnung zum Ziel, die, da sie bei entsprechender Anpassung an das jeweilige Objekt sich auch für andere Protozoen als recht brauchbar erwiesen hat, im folgenden in aller Kürze mitgeteilt sei. Man bereitet sich zwei peinlich saubere Deckgläser vor, eines  $18 \times 18$  mm, das andere etwas größer. Dieses letztere befestigt man mit einem Wassertröpfchen auf einem Objektträger. Sodann legt man sich Filtrierpapierstreifen, so breit wie das kleinere Deckglas, eine saubere und eine mit der Fixierungsflüssigkeit (am besten stark alkoholhaltige Gemische; unbrauchbar sind Chromsäuremischungen) gefüllte Pipette zurecht. Nunmehr centrifugiert man die die Flagellaten enthaltende Kulturflüssigkeiten so lange, bis jene in der Spitze des Röhrchens angesammelt sind (ja nicht länger, bei *Collodictyon* brechen schon bei dieser Manipulation die Geißeln oft ab, bei längerem Centrifugieren werden die Zellen völlig zerstört, besonders wenn sie mit Nahrungskörpern vollgepfropft sind). Jetzt saugt man mit der sauberen Pipette ein kleines Quantum des Sediments auf und tropft es auf das größere Deckglas (der Tropfen darf weder zu groß noch zu klein sein), bedeckt mit dem kleineren und bringt das ganze unters Mikroskop. Sodann saugt man vorsichtig mit Filtrierpapierstreifen solange ab, bis die Flagellaten leicht abgeplattet sind, und fügt dann sofort am anderen Deckglasrand ein Tröpfchen Fixierungsflüssigkeit hinzu, dem man nun in Abständen nach Maßgabe des Verbrauchs weitere folgen läßt. Ist der ganze Raum unter dem Deckglas gleichmäßig mit Fixierungsflüssigkeit erfüllt, so löst man jetzt das größere Deckglas vom Objektträger ab und legt es — mit dem kleineren Deckglas nach unten — in eine mit 96proz. Alkohol gefüllte Uhrschaale. Hier löst sich das kleinere Deckglas entweder von selbst los und sinkt zu Boden, oder es kann dazu leicht durch sanftes Klopfen mit einer Pinzette auf das obere größere Deckglas veranlaßt werden. Bei diesem Verfahren bleiben 40—80 Proz. des Materials auf beiden Deckgläsern haften. Weiterbehandlung wie bei gewöhnlichen Ausstrichen.

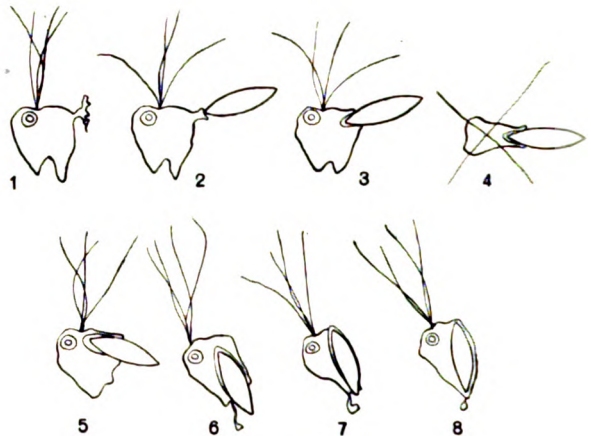
„Pyriform, straight or slightly bent upon itself, bifid at the small extremity, presenting on the larger one an indentation, from which spring three cilia. Structure transparent, cancellated, composed of globular cells, with a strongly marked greenish granule here and there in the triangular spaces between them. Locomotive, swimming by means of the cilia, subpolymorphic, flexible, yielding, capable of assuming a globular form, or one more or less modified by the body it may incept; enclosing crude material for nourishment in stomachal spaces and ejecting the refuse like *Amoeba*. Provided with a nucleus and contractile vesicles. Size: length 1/771st of an inch. In voracity it is so greedy that it will frequently enclose part of a body which it is not large enough to enclose entirely.“



Textfig. A.

Textfig. A. *Collodictyon triciliatum*. Momentaufnahme einer Kultur in der Kulturschale. In der Nähe des unteren Randes ein Riesenindividuum. Vergr. 100 fach.

Textfig. B1–7. *Collodictyon triciliatum*. Nahrungsaufnahme in 7 aufeinanderfolgenden Stadien nach dem Leben skizziert. Vergr. ca. 400 fach.



Textfig. B.

Dies ist die Beschreibung, die CARTER von *Collodictyon* gibt, und wenn man einige Korrekturen anbringt (was ja seitdem seitens scheidener Untersucher geschehen ist: die „globulars cells“ sind natürlich leere Nahrungsvakuolen und das Flagellat hat nicht drei, sondern vier Geißeln), so kann man wohl kaum eine anschaulichere und konzisere Beschreibung in Worten sich denken.

Der Habitus geht aus den Fig. 46 u. 47, die nach dem Leben entworfen sind, hervor. Maße: Länge des ganzen Tieres 20–70  $\mu$ , Breite 12–25  $\mu$ , Länge der Geißeln 50–65  $\mu$ , Kerndurchmesser

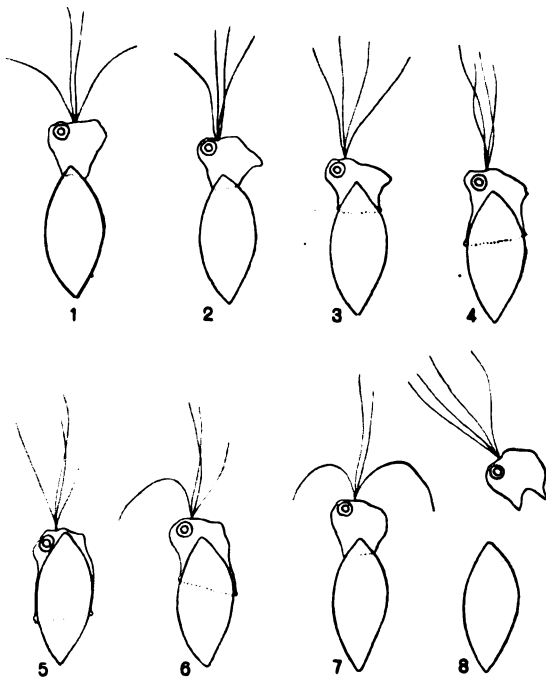
6—10  $\mu$ . Ich will nur auf einige Punkte, die das Bild etwas ergänzen, auf Grund meiner Lebendbeobachtungen etwas näher eingehen: Nahrungsaufnahme und Verdauung.

Die Nahrung, im Freien wohl so ziemlich jeder zu bewältigende Organismus, von Bakterien angefangen, bei zu kleinen Ciliaten (*Colpidium*, *Chilodon*), kann an jeder beliebigen Stelle des Körpers aufgenommen werden, ausgenommen ist nur die vordere Zone dichten Plasmas, die den Kern enthält und an dem die Geißeln inserieren. Textfig. B erspart eine lange Schilderung. Von Zeit zu Zeit bildet

das Flagellat an einem beliebigen Punkte<sup>1)</sup> seiner Oberfläche ein kleines, manchmal etwas verzweigtes Pseudopodium aus; trifft dieses nun auf irgend etwas Freßbares (man kann aber statt dessen auch Karmin substituieren!), so wird die Beute ganz nach Amöbenart ergriffen und ins Innere befördert; ist dies nicht der Fall, so wird das Pseudopodium nach 20—40 Sekunden wieder eingezogen. Textfig. C zeigt eine nicht selten zu

machende Beobachtung, die auch schon CARTER erwähnt: die erwähnte Beute war

zu groß, es wurde der Versuch gemacht, dieselbe aufzunehmen, bis der Kern „in Gefahr kam“, und dann wurde sie rasch wieder ausgestoßen. Ich möchte aber davor warnen, dies als Anekdote für eine „Psychologie der Einzelligen“ zu verwenden. —

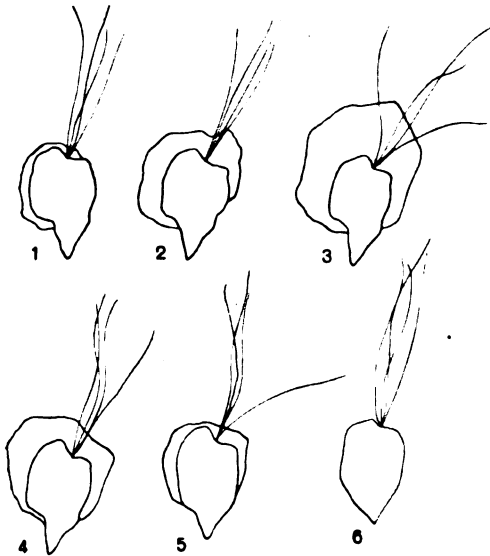


Textfig. C1—8. *Collodictyon triciliatum*. Aufnahme und Ausstoßen einer zu großen Beute, nach dem Leben. Vergr. ca. 400fach.

<sup>1)</sup> RHODES gibt hingegen an, daß der im übrigen metabole Körper von *Collodictyon* doch eine konstante Längsfurche zeigt; die Pseudopodien sollen in der Regel nur in deren Bereich auftreten. Ich konnte derartiges nicht feststellen.



Die starke Metabolie der Oberflächenspannungsverhältnisse zeigt sich auch noch an einem anderen Phänomen (Textfig. D). Beobachtet man zahlreiche Individuen von *Collodictyon* zwischen Deckglas und Objektträger, so sieht man öfters, wie sich ein Tier an der Deckglasoberfläche festsetzt — offenbar ist es mit einem „in Bereitschaft gehaltenen“ Pseudopodium angestoßen — und wie sich nun eine feine Schicht hyalinen Plasmas konzentrisch um den Körper des



Textfig. D 1—6. *Collodictyon triciliatum*.  
6 aufeinanderfolgende Stadien der Anheftung ans Deckglas und Wiederlösung. Vergr. 400 fach.

Flagellaten am Glas ausbreitet. Dies geht schließlich so weit, bis schließlich auch eine schmale Zone vakuolisierten Ectoplasmas flächig ausgebreitet ist (Textfig. D d u. Fig. 48). Nach einiger Zeit wird dieser Prozeß wieder umgekehrt durchlaufen, bis das Flagellat wieder frei ist. Ein schönes Beispiel für die Zwangläufigkeit der Pseudopodienbewegung: die Reaktion des Pseudopodiums der Glasoberfläche gegenüber ist naturgemäß etwas anders als einem kleinen Körper gegen-

über; das allmähliche konzentrische Ausbreiten der hyalinen Ectoplasmaschicht ist eben die Ingestionsströmung in Vertikalprojektion.

Eigenartig ist schließlich die Verdauung der aufgenommenen Nahrung. Wir sind gewohnt zu sehen, daß der aufgenommene Nahrungskörper einer zunehmenden Maceration und Substanzverminderung unterworfen wird, bis schließlich einige bräunliche Granula als Fäces ausgestoßen werden. Bei *Collodictyon* liegt die Sache etwas anders. Die Maceration ist hier ebenfalls festzustellen (Fig. 47); hat sie jedoch einen gewissen Grad erreicht, so ändert sich das Bild insofern, als jetzt der gesamte Inhalt der Nahrungsvakuole stark lichtbrechend wird und auch Farbstoffe leicht bindet. Anfänglich kann man die Nahrungsreste als Granula in der so gebildeten Kugel noch wahrnehmen (Fig. 19), später erscheint diese

völlig homogen (Fig. 47, 53, 63, 65), das sind dann die „strongly marked greenish granules“ CARTER'S. Und diese Kugel wird nun immer kleiner und wird schließlich ausgestoßen.

Die kontraktile Vakuolen (ich kann also im Gegensatz zu RHODES, der sie vergeblich suchte, die alte Angabe CARTER'S bestätigen) liegen in 1—3-Zahl an der Grenze zwischen dem dichten Plasma des Vorderendes und der übrigen als nutritorische Zone zu bezeichnende vakuolisierende Plasmamasse. Sie arbeiten alternierend, in Intervallen von 30—45 Sekunden zwischen je zwei Kontraktionen.

Gut fixierte Präparate geben ein deutlicheres Bild von den oben geschilderten Verdauungsvorgängen. Die dichte Plasmazone am Vorderende erscheint deutlich alvestär gebaut. An der Basis jeder der vier Geißeln sieht man ein Basalkorn. Rhizoplasten u. dgl. sind nicht wahrnehmbar. Die Geißeln selbst zeigen nicht selten deutlich die Struktur der sog. Bandgeißel: eine kräftige Fibrille, etwas schraubig gewunden, an der eine etwas breitere blaßgefärbte stärker gewundene Zone entlang läuft (Fig. 54). RHODES beschreibt den Geißelapparat etwas anders: die Geißeln entspringen zu zweit von zwei Basalkörnern, die in ein „granular archoplasm“ eingelagert erscheinen; von den Basalkörnern gehen zwei Rhizoplasten bis zur Kernmembran. Ich konnte derartige Strukturen nie beobachten.

Der Kern, der in der Folge unser Hauptinteresse in Anspruch nehmen wird, ist ein typischer Caryosomkern. Eine Kernmembran ist nur andeutungsweise sichtbar. Das Caryosom zeigt die typischen Farbreaktionen und außer gelegentlich auftretenden kleinen Vakuolen (Fig. 57) keine weiteren Strukturen. Der Außenkern ist feinwabig, in den Knotenpunkten sind oft kleine Körnchen sichtbar. Ungefähr die Hälfte aller Kerne zeigt schon im Ruhezustand — also in Individuen, die sonst keinerlei Anzeichen einer beginnenden Teilung aufweisen — einen granulierten Außenkern (Fig. 49, 57, 58). Regelmäßig ist ferner in einem gewissen, nicht geringen Prozentsatz aller Kerne ein stark mit Eisenhämatoxylin färbbares Korn in der Nähe des Caryosoms nachweisbar, welches als Centriol anzusprechen ist. Daß es nicht in allen Kernen sichtbar wird, ist ohne weiteres verständlich, wenn man bedenkt, daß es sich, wenn es — vom Beobachter aus gerechnet — über oder unter dem Caryosom liegt, der Beobachtung entziehen muß. Wo es jedoch sichtbar ist, ist es stets deutlich als besondere Struktur kenntlich. Ganz außer Frage gestellt wird jedoch die Natur dieses Kornes in den Kernen der Riesenindividuen, auf die ich jetzt zu sprechen komme. In den

Kulturen findet man nämlich außer dem der oben gegebenen Beschreibung zugrunde liegenden Typus noch einen zweiten, dessen Häufigkeit zwischen 0 und 5 Proz. schwankt. Es sind Riesen bis zu 80  $\mu$  Länge, durch alle Übergänge mit dem Normaltypus verbunden. Im Leben sind sie außer an ihrer Größe auch an ihren weit trägeren Bewegungen kenntlich. Die extremen Formen dieses Typs (von 60—80  $\mu$ ) zeigen nun einen etwas abweichenden Kernbau (Fig. 51, 56, 57). Das Caryosom ist etwas exzentrisch gelagert und das Chromatin des Außenkerns ist nicht selten zu einem mehr oder weniger dichten Klumpen geballt (Fig. 51, 56). An günstigen Präparaten kann man nun erkennen, daß das Zentrum dieses Klumpens vom Centriol eingenommen wird, von dem eine typische Strahlung ausgeht (Fig. 56, 57). Diese Strahlung ist übrigens auch in Präparaten, die das Centriol nicht erkennen lassen, stets sichtbar (Fig. 51). Diese Riesenformen hielt ich anfangs für hypertrophische Degenerationsstadien, wie sie bei anderen Protisten öfters vorkommen, doch konnte ich mich durch isolierte Weiterzucht in hohlgeschliffenen Objektträgern leicht davon überzeugen, daß sie sich durch fortgesetzte Teilung stets wieder in den Normaltypus verwandeln können; über die physiologischen Bedingungen, die zu diesem aberranten Typus führen, vermag ich allerdings keine Auskunft zu geben.

**Teilung.** Da sich, wie schon oben erwähnt, auch schon im ruhenden Kern häufig Chromatinkörnchen in dem Wabenwerk des Außenkernes herausdifferenzieren, so kann der Beginn der Teilung nicht strikt datiert werden. Diese Differenzierung nimmt immer mehr zu, die Körnchen wachsen und lagern sich dem Caryosom dicht an (Fig. 59, 60, 61). Jetzt erkennt man auch an dem Verhalten des Geißelapparates, daß sich das Flagellat zur Teilung anschickt: die Basalkörner samt zugehörigen Geißeln rücken zu zweit auseinander (Fig. 61 ff.). Über diesen Vorgang ist weiter nicht viel zu sagen, er nimmt synchron mit der Kernteilung seinen Fortgang und erst bei der Rekonstruktion der Tochterkerne ergänzt sich die Geißelzahl jedes Tochtertieres durch Teilung der alten Basalkörner und Neubildung der Geißeln aus den Teilungsprodukten auf 4; die alten Geißeln werden also von den Tochtertieren übernommen.

Die offenbar in dem Intervall zwischen dem Stadium der Fig. 60 und dem der Fig. 62 erfolgende Teilung des Centriols und Bildung der Spindel habe ich trotz sorgfältigen Suchens nicht beobachten können. Fig. 62 zeigt uns bereits die Chromatinkörner, einerseits scharf von dem übrigen Außenkern getrennt, andererseits aber in inniger Verbindung mit dem Caryosom, welches seine Kugelgestalt

eingebüßt hat. Außerdem sieht man eine kleine deutlich gefärbte Spindel mit spitzen Polen sich im Kernraum ausdehnen. Da man, um das Chromatin vom Caryosom deutlich unterscheiden zu können, die Eisenhämatoxylinfärbung stark differenzieren muß, so sind die Centriolen nicht sichtbar, doch ist ihr Vorhandensein auch in diesem Stadium nicht zu bezweifeln: die Spindelpole sind die Ausgangspunkte von deutlichen Strahlungen (Fig. 62, 63, 65). Die Chromatinkörner verbacken nun immer mehr mit der Caryosomsubstanz, sich gleichzeitig um den Spindeläquator zu einem Ring schließend (Fig. 64), während sich die Spindel immer mehr in die Länge streckt, bis ihre Pole bis an die Kernmembran anstoßen (Fig. 66, 67). Ist dieses Stadium erreicht, so schwindet auch die Polstrahlung; gleichzeitig ist der Chromatinring zu einer Platte geworden (Fig. 65, 66, 68, 69). In nicht genügend stark entfärbtem Eisenhämatoxylin- und in allen anders (GIEMSA<sup>1)</sup>-, Hämalaun-, Safranin-Lichtgrün-, Biondifärbung) gefärbten Präparaten erscheint diese Platte als einheitliches homogenes Gebilde mit den Farbreaktionen des Caryosoms im Ruhekern. Zieht man jedoch die E.H.-Färbung stark aus, so löst sich die Äquatorialplatte auf: 1. in eine homogene Substanz, in die 2. ca. 20 Chromatinkörner (Fig. 68, 69) eingebettet erscheinen und von der 3. ein Teil als tropfenförmiges Gebilde seitlich die Platte verbreitert (Fig. 67, 68, 69), ein deutlicher Beleg, daß das Caryosom an der Spindelbildung nicht substantiell beteiligt ist. Die Chromosomen — als die man die Chromatinkörner ihrem Verhalten und ihrer konstanten Zahl nach bezeichnen muß — zeigen in diesem Stadium deutliche Zweiteilung (Fig. 67, 69).

In der Anaphase weichen diese Teilhälften auseinander, anscheinend unter Mitwirkung der sie verbindenden Caryosommasse; nicht selten zeigen nämlich die frühen Stadien der Anaphase deutliche Assymetrie, indem an der einen — stets dem Geißelpol abgewandten — Seite der Teilungsfigur die Tochterplatten früher auseinander weichen (Fig. 71) also an der Seite, wo vordem der große Caryosomrest (Fig. 66, 67) gelegen hat. Aus der sanduhrförmigen Gestalt der sich teilenden Äquatorialplatte (Fig. 72, 73) ist auch ihre Viskosität erkennbar. Die beiden Tochterplatten sind zunächst noch napfförmig und durch einen zentralspindelartigen Streifen miteinander verbunden (Fig. 76). Die Chromosomen sind auf diesem

<sup>1)</sup> Auch bei diesem Objekt gelang es mit dieser Färbung nie die Spindel anders als rot und die Äquatorialplatte anders als blau zu färben, ein neuerlicher Hinweis darauf, daß diese Färbung für die Unterscheidung von Chromatin und Spindelsubstanz ebenso inkompetent ist wie alle anderen.

Stadium, wie bei den meisten Protistenmitosen, nur schwer sichtbar zu machen, gelingt dies, so kann man bei den Riesenformen auch hier den geteilten Caryosomrest deutlich sichtbar machen (Fig. 76). Überhaupt zeigen diese Riesen die Besonderheit, daß ein weit geringerer Teil des Caryosoms für die Verkittung der Chromosomen verbraucht wird (Fig. 67, 68, 76) und daß der Caryosomrest weit schärfer von der Äquatorialplatte gesondert erscheint.

Während all dieser Vorgänge hat sich der Kern in die Länge gestreckt; die Kernmembran löst sich nun in ihren zwischen den Tochterplatten gelegenen Partien auf, während sich ihre Reste um die Tochterplatten samt den zugehörigen Polteilen der Spindel zu einer neuen Membran schließen. Nunmehr verschwindet auch die Spindelstruktur und die Tochterplatte erfüllt fast den ganzen Raum des neuen Kerns. Die Rekonstruktion der Kerne erfolgt in derselben Weise, wie ich sie für Thecamöben beschrieben habe: die Chromosomen wandern unter gleichzeitiger Zerstäubung an die Peripherie in den Außenkern, während sich die Caryosoms substanz aus kleinen Tröpfchen, die zusammenfließend sich dem Zentrum nähern, wieder aufbaut, bis schließlich ein neues Caryosom, welches in seiner Gestalt noch deutlich seine Entstehung erkennen läßt (Fig. 81, 82, 83), einen gleichmäßig alveolären Außenkern liegt. Das Centriol hat sich von der Kernmembran entfernt und wieder dem Caryosom genähert.

Die Zellteilung ist die typische Längsteilung der Flagellaten.

Während sich die Kernteilung von *Collodietyon* nach der hier gegebenen Darstellung nur in Details von der anderer Flagellaten, speziell den Volvocineen, unterscheidet, verläuft sie nach der Beschreibung von RHODES nach einem ganz andern, bisher unbekanntem Typus. Zunächst teilt sich das Caryosom in zwei Teile: „macro-caryosome“ und „microcaryosome“. Ersteres löst sich entweder in der Metaphase auf oder geht ungeteilt auf einen der Tochterkerne über. Das „microcaryosome“ bildet einen „prophase skein“, also eine Art Strang oder Spirem aus, welches in „two crescents and four terminal knobs“ segmentiert wird. Die beiden ersteren (auf den Bildern als chromosomenähnliche Schleifen dargestellt, mit knotigen Enden: terminal knobs) spalten sich der Länge nach und es resultieren schließlich acht Chromosomen, welche nunmehr zweigeteilt werden und sich schließlich zur Äquatorialplatte anordnen. Zur selben Zeit löst sich um das „microcaryosome“ eine „kinetic membrane“ los, die sich immer mehr ausdehnt, bis sie die Kern-

membran erreicht hat. Über die Genese der Spindel konnte RHODES nicht ins Klare kommen. Das fertige Metaphasestadium bildet er ähnlich ab, wie ich auf Fig. 66. Manchmal wird eine extranucleäre Centrodese (ähnlich wie bei Hypermastiginen) beobachtet. Die Ana- und Telophase verläuft ungefähr ebenso wie nach meiner Darstellung.

Ich glaube, daß sich diese Darstellung, so abweichend sie auf den ersten Blick erscheinen mag, doch mit meiner hier gegebenen Auffassung vereinen läßt, wenn man in Betracht zieht, daß RHODES viele Stadien scheinbar nur in geringer Zahl vorgelegen haben (er hat *Collodictyon* nicht kultiviert) worunter auch so manche Degenerationsform gewesen sein kann (von ihm selber gelegentlich hervorgehoben). Da RHODES selbst seine Darstellung als nicht definitiv bezeichnet, so möchte ich versuchen, sie in meinem Sinne zu interpretieren. Prophasen, wie sie meine Fig. 58, 59 u. 60 zeigen, scheint RHODES überhaupt nicht beobachtet zu haben. Die Übergangsstadien zur Metaphase (Fig. 61, 62, 63) sind auch in meinen Präparaten ziemlich selten. Also entspricht das „microcaryosome“ dem Chromosomenhaufen auf meinen Fig. 61, 52. Und damit ist dem ganzen Teilungsvorgang sein bizarrer Charakter, den er nach RHODES trägt, genommen. Die „Durchschnürungsstadien“, des Caryosomes, die nach RHODES die Mitose einleiten, sind meiner Ansicht nach ganz sicher pathologische Caryosomfragmentationen.

#### IV. Schlußbemerkungen.

Zwei Besonderheiten sind es, die der Kernteilungsmodus von *Collodictyon*, der sonst dem der Volvocineen (*Chlorogonium*, *Eudorina*, *Volvox*, *Polytoma*, *Polytomella*)<sup>1)</sup> ohne weiteres beizuordnen wäre, aus-

<sup>1)</sup> Vielleicht kann auch eine systematische Konsequenz aus obigen Befunden gezogen werden. Als ich die ersten — wie die Folge lehrte — stark überfärbten Präparate durchmusterte, fiel mir sofort die frappante Ähnlichkeit mit den von HARTMANN und CHAGAS gegebenen Teilungsbildern (Meta- und Anaphase) von *Spongomonas uvella* auf. Ich zweifle nicht, daß es sich bei *Spongomonas* um genau denselben Teilungsmodus handelt, wie bei *Collodictyon*. Die Fig. 30 von HARTMANN und CHAGAS zeigt ebenfalls die Chromosomen im Außenkern und die Centrodese auf Fig. 33 kann sehr gut durch Schrumpfung in derselben Weise entstanden sein, wie die entsprechenden Bilder bei *Bodo lacertae*. Auch Herr Professor HARTMANN hat sich dieser Deutung angeschlossen. — Somit wäre das Caryosom bei *Spongomonas* ebensowenig Träger der idiogenerativen Komponente wie bei *Collodictyon*. Und da letztere Form auch sonst mit den Volvocineen weitgehende Übereinstimmung aufweist, so wäre eventuell auch die Amphimonadinen (natürlich nur dann, wenn sich die übrigen noch nicht untersuchten Vertreter dieser Gruppe

zeichnen. Erstens das Auftreten von Polstrahlungen, gewiß ein frappierendes Phänomen, welches wir sonst nur bei den dem Metazootyp am meisten genäherten Protistenmitosen zu sehen gewöhnt sind. Es muß einen nachdenklich stimmen, wenn man diesen Charakter einer hochdifferenzierten Kernteilung hier bei einem der „primitivsten“ Organismen, bei einer intranucleären Mitose eines Caryosomkernes antrifft <sup>1)</sup>).

Das zweite ist das eigenartige Verhalten des Caryosoms, weder fungiert es als Nucleolocentrosom, noch betätigt es sich an der Bildung der Chromosomen, noch löst es sich gänzlich auf, sondern es verliert seine Gestalt und dient zur Verkittung der Chromosomen untereinander zu einer einheitlichen Äquatorialplatte. Man möchte beinahe geneigt sein, an eine Art Kontinuität des Caryosoms zu glauben. Das es sich hier an der Spindelbildung beteiligt, erscheint jedenfalls nicht sehr wahrscheinlich, im ganzen ersten Abschnitt ist weder eine nennenswerte Substanzabnahme noch eine Verflüssigung ähnlich der, wie sie von DOFLEIN für *Polytomella* beschrieben wurde, zu beobachten. Eher könnte man der Caryosomsubstanz eine Rolle im Anaphasenmechanismus zuschreiben, es wäre gut denkbar, daß die verquellende Kittsubstanz hier eine der treibenden Kräfte ist. Sei es nun wie es will, jedenfalls kann man aus den hier geschilderten Verhältnissen neuerdings mit Klarheit erkennen, daß der Formwechsel des Caryosomkernes keineswegs auf eine so einfache Formel zu bringen ist, wie dies neuerdings DOFLEIN tut: nach DOFLEIN soll das Caryosom durch Verquellung und Verflüssigung die Spindelfasern bilden, wobei es in manchen Fällen (*Vahlkampfia*) erhalten bleibt, in anderen Fällen (*Polytomella*) gänzlich verschwindet; dazwischen gibt es Übergänge (*Pyridicula*).

Zwei Fragen sind es vielmehr, die uns der Caryosomkern zu lösen aufgibt: 1. Was für eine Rolle spielt das Caryosom bei der Teilung, welchem Formwechsel, eventuell auch Stoffwechsel ist es unterworfen? Die Beantwortung dieser Frage ist schon ziemlich weit vorgeschritten, wenngleich noch lange nicht zur Vollständigkeit gediehen. 2. Welchem Faktor ist es zuzuschreiben, daß Kerne, die in ihrem Formwechsel sich so durchaus

cytologisch ebenso verhalten, wie *Spongomonas*) aus ihrer jetzigen Stellung herauszunehmen, und wenn nicht zu den Volvocinen selbst, so doch in deren Nähe zu stellen.

<sup>1)</sup> Ich kann daher RHODES absolut nicht beistimmen, wenn er sagt: „*Collo-dictyon* is one of the simplest of the Polymastigotes both in morphology and mitotic phenomena.“

verschieden verhalten (man stelle nur z. B. die drei Typen: *Vahlkampfia*, *Prowazekia* und *Eudorina* nebeneinander), im Ruhezustand ein und dasselbe Aussehen annehmen, eben den Zustand des Caryosomskernes. Die Beantwortung dieser Frage ist noch nicht einmal begonnen worden, ja ich möchte behaupten, daß sie überhaupt hier zum erstenmal ihre Formulierung erfahren hat, und sie ist das eigentliche Problem des Caryosomkernes. Die Verschiedenheiten im Formwechsel der einzelnen Kategorien des Caryosomkerntypus sind bestenfalls einer der Wege, die uns zur Lösung des Problems: das was ihnen allen gemeinsam ist, führen können, aber nicht das Problem selbst, wie DOFLEIN meint. Ich zweifle nicht, daß die Kolloidphysik uns hierauf wird völlig befriedigenden Aufschluß geben können; gerade diese Einförmigkeit im Ruhezustand bei so verschiedenen Verhalten bei der Teilung ist schon ein Hinweis darauf, daß man hier ohne Zuhilfenahme jenes geheimnisvollen Etwas, was man die spezifische Struktur nennt und dessen Zurückführung auf Gesetzmäßigkeiten der unbelebten Materie noch in hoffnungsloser Ferne steht, wird auskommen können.

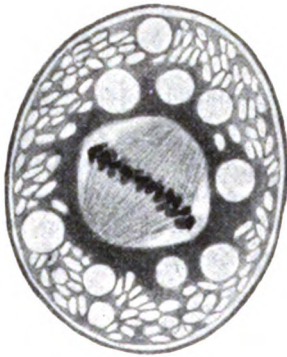
Schließlich ein paar Worte zur Centriolenfrage (ich glaube nicht, daß sie den Ehrentitel eines Problems verdient; sie kann vielleicht wieder zum Problem werden, aber bis dahin ist es noch weit; solange die kausale Erforschung der Zellteilungsmechanik noch in den Kinderschuhen steckt, kann man sich auf Erforschung von Detailfragen nicht einlassen). Es ist über diese Angelegenheit viel Tinte und Druckerschwärze verbraucht worden, und wenn hier noch einmal die Rede davon ist, so geschieht dies nicht etwa nur, — nachdem DOFLEIN in seiner *Polytomella*-Arbeit seinen Standpunkt präzisiert hat — um in der Diskussion das letzte Wort zu behalten, sondern um die Stellung die die Protozoencytologie zu dieser Frage m. E. schließlich doch wird einnehmen müssen, einigermaßen genau festzulegen. —

Daß bei vielen Protistenmitosen Centriolen als regelmäßig vorkommende Strukturelemente vorkommen, daran ist nicht mehr zu zweifeln; schließlich muß man doch zur Erkenntnis kommen, daß nicht jeder positive Centriolenbefund mit psychologischen Gründen oder mit abfälliger Kritik der Präparationstechnik des betreffenden Autors wegzu erklären ist <sup>1)</sup>. Speziell möchte ich gerade bei den Volvocineen, bei

<sup>1)</sup> Dabei kann aber andererseits auch nicht geleugnet werden, daß die von DOFLEIN und anderen geübte Kritik auch eine gute Wirkung gehabt hat, indem dadurch viele der durch die HARTMANN'schen Arbeiten inspirierten mehr oder weniger voreilig publizierten Centriolenbefunde verdienstermaßen diskreditiert wurden.



denen DOFLEIN das Vorkommen von Centriolen gänzlich in Abrede stellen will, für *Polytoma*, *Chlorogonium*, *Gonium* und *Eudorina* ausdrücklich hervorheben, daß bei diesen Formen Centriolen einwandfrei nachweisbar sind (v. PROWAZEK, HARTMANN, G. ENTZ), daß aber Centriolen nicht bei allen Protistenmitosen vorkommen, davon ist ja auch die HARTMANN-Schule schon längst abgekommen. (Ich verweise auf die von SCHÜSSLER, JOLLOS und mir gegebenen Beschreibungen stumpfpoliger Spindeln ohne Centriolen.) Gerade bei den Volvocineen kann man auch sehr hübsch sehen, welcher Mannigfaltigkeit die lokomotorische Komponente hier fähig ist und daß auch hier der spitzpolige Spindeltyp nicht Alleinbeherrscher ist. Bei einer ziemlich großen *Chlamydomonas*-Spezies habe ich stumpfpolige Spindeln, ganz ähnlich denen bei *Parapolytoma*, ohne Zentren beobachten können (Textfig. E). Die Centriolen sind eben nicht prinzipielle Strukturelemente aller Protistenkerne, sondern nur für manche Typen charakteristisch.



Textfig. E.  
*Chlamydomonas* sp. Mitose.  
Klatschpräparat von Agar-  
kultur. Sublimatalkohol.  
Eisenhämatoxylin.  
Vergr. 2300fach.

Aber der Eifer<sup>1)</sup>, mit dem von vielen Seiten auch heute noch gegen jeden positiven Centriolenbefund ins Feld gezogen wird, die Wichtigkeit, die offenbar dieser ganzen Frage beigemessen wird, zeigt nur, daß man sich nicht bewußt ist (ich meine damit nicht DOFLEIN, der ähnliches, nur nicht so scharf, bereits in seiner letzten Arbeit ausgesprochen

<sup>1)</sup> Um nicht zu sagen, Animosität. DOFLEIN beleuchtet in seiner *Polytomella*-Arbeit die „psychologischen Grundlagen“, die die SCHAUDINN-Schule dazu verführt hätte, Centriolen auch dort zu sehen, wo sie nicht vorhanden sind. Es wäre kurzsichtig, wenn man die Berechtigung dieses Arguments kurzerhand ablehnen wollte. Wie der Wunsch der Vater des Gedankens, so ist speziell in der Biologie die Theorie der Beobachtung. Wenigstens was mich anbelangt, so muß ich gestehen, daß ich in manchen meiner früheren Arbeiten von einer solchen Voreingenommenheit nicht freizusprechen bin. Aber es läßt sich nicht alles auf diese Weise wegerklären. Und wenn schon Psychologie getrieben werden soll, so möchte ich auch bei der Gegenpartei ein psychologisches Element nicht unbetont lassen, den „Geist, der stets verneint“. — Es ist eine stets wiederkehrende Erscheinung, daß sowie auf irgendeinem Gebiet etwas Neues produziert (hier im wörtlichsten Sinne gemeint, also: vorgeführt) wird, sich das wissenschaftliche Publikum von vornherein in zwei Gruppen spaltet, von denen sich eine zustimmend, die andere ablehnend verhält; eine Spaltung, die vielleicht den Gegensatz zwischen synthetischer

hat), daß, selbst wenn man bei jeder Mitose Centriolen nachweisen könnte, man doch „so klug [als wie zuvor] wäre; selbst wenn das Centriol „stets an einer typischen Stelle gesetzmäßig (es sollte richtiger heißen: regelmäßig) auftritt“ (DOFLEIN), so wüßte man noch immer nichts von seiner kausalen Bedeutung für die Zellteilungsmechanik und für das gesamte Zellenleben überhaupt.

Wir müssen uns mit der einfachen Konstatierung begnügen: Es kommen bei vielen Protistenmitosen Centriolen vor, die sich ebenso verhalten, wie die gleichbenannten Gebilde in Metazoenzellen.

### Literaturverzeichnis.

(Es sind nur diejenigen Arbeiten angeführt, auf die ich mich im Text berufe.)

- ALEXEIEFF, A. (1911): Sur les „Kystes de *Trichomonas intestinalis*“ dans l'intestin des batraciens. Bull. scientif. de la France et de la Belgique 7. Sér. T. 44.
- (1912): Sur quelques noms de genre des flagellés qui doivent disparaître de la nomenclature pour causer de synonymie ou pour toute autre raison. Diagnoses de quelques genres récemment étudiés. Zool. Anz. Bd. 39.
- (1914): Note protistologues. Ibid. Bd. 44.
- CARTER, H. I. (1865): On the fresh-and saltwater Rhizopoda of England and India. Annals and mag. of nat. hist. 3. ser. Vol. 15.
- DOFLEIN (1918): Studien zur Naturgeschichte der Protozoen. X. Über *Polytomella agilis* ARAGAO usw. Zool. Jahrb. Abt. Anat. Bd. 41.
- FRANCÉ, R. H. (1899): A *Collodictyon triciliatum* CART. Szervezete (über den Organismus *Collodictyon triciliatum* CART.). Termeszettai füzetek 22. Budapest.
- HARTMANN, M. u. C. CHAGAS (1910): Flagellatenstudien. Mem. de Inst. Oswaldo Cruz. Vol. 2.
- KOFOID, C. A. u. SWEZY (1920): On the morphology and mitosis of *Chilomastix mesnili* (WENYON) a common flagellate of the human intestine. Univ. of Calif. public in Zoology Vol. 20.
- KOLTZOFF, N. K. (1906): Studien über die Gestalt der Zelle. I. Untersuchungen über die Spermien der Decapoden als Einleitung in das Problem der Zellgestalt. Arch. f. mikr. Anat. Bd. 67. — II. Untersuchungen über das Kopfskelett des tierischen Spermiums. Arch. f. Zellforsch. Bd. 2.
- KOLTZOFF, N. K. (1911): III. Untersuchungen über die Kontraktilität des Vorticellinstiels. Ibid. Bd. 7.

und analytisch kritischer Geistesrichtung entspricht. Und wenn man auch zugeben muß, daß viele Autoren ihre ablehnende Haltung erst allmählich auf Grund negativer Befunde eingenommen haben, so kann man doch aus der gefühlsmäßigen Färbung der Kritik vieler erkennen, daß noch ein Rest übrigbleibt, dem das oben erwähnte Moment zugrunde liegt.

- KUCZYŃSKI, M. H. (1918): Über die Teilung der Trypanosomenzelle nebst Bemerkungen zur Organisation einiger nahestehender Flagellaten. Arch. f. Protistenk. Bd. 38.
- PROWAZEK, S. v. (1904): Untersuchungen über einige parasitische Flagellaten. Arb. a. d. Kaiserl. Gesundheitsamt Bd. 21.
- RHODES, R. C. (1919): Binary fission in *Colloidietyon triciliatum* CARTER. Univ. of Calif. public. in Zoology Vol. 19.
- TAYLOR, CH. V. (1920): Demonstration of the function of the neuromotor apparatus in *Euplotes* by the method of microdissection. Ibid. Vol. 19.
- YOCOM, H. B. (1918): The neuromotor apparatus of *Euplotes patella*. Univ. of Calif. publ. in zoology Vol. 18.

### Tafelerklärung.

Überall, wo die Geißeln nicht in ihrer ganzen Länge dargestellt sind, ist dies durch einen kleinen Querstrich angedeutet.

Die Vergrößerungen 650, 1350, 1950 und 2300fach entsprechen den Kombinationen der Kompensationsokulare 4, 8, 12 und 18 mit dem Objektiv ZEISS hom. Immers. Apochr. 2 mm, n. A. 1,3. Zeichentisch in der Höhe des Objektisches.

#### Abkürzungen:

- SA = Sublimatalkohol nach SCHAUDINN.  
 SAA = gesättigte Lösung von Sublimat in absolutem Alkohol;  
 E = Eisessig;  
 PE = Pikrinessigsäure nach BOVERI;  
 Fl = FLEMMING's Gemisch, stark.  
 SK = Sublimatkochsalz nach HEIDENHAIN.  
 EH = Eisenhämatoxylin nach HEIDENHAIN.  
 F = Fuchsin S.  
 MFO = Methylgrün-Fuchsin-Orange G (BIONDI).  
 SL = Safranin-Lichtgrün.  
 H = Hämalaun nach MAYER.  
 G = GIEMSA-Färbung.

#### Tafel 15.

*Bodo lacertae*. 2300 mal.

- Fig. 1. Großes Normaltier (schwache Infektion). SAAE. EH.  
 Fig. 2. Riesenform mit Zerfall der Parabasale. SAAE. EH.  
 Fig. 3, 6, 8. Verschiedene Normaltypen. EH. 3 und 6 SA. 8 SAAE.  
 Fig. 4. Abgekugelte Form. SAAE. EH.  
 Fig. 5. Normaltypus mit Zerfall der Parabasale. Fl. EH.  
 Fig. 7. Kleine Form mit auseinander gezerrtem Ringk. II. SK. EHL.  
 Fig. 9—11. Prophase.  
 Fig. 9. Spirem; jüngste Geißelbildungstadien. SAAE. EH.  
 Fig. 11. Desgl.

- Fig. 10. SA.  
 Fig. 12, 13. Übergang zur Metaphase. SAE. EHF.  
 Fig. 14, 15. Metaphase. SAAE. EH.  
 Fig. 16, 17. Anaphase. SAE. EHF.  
 Fig. 18. Übergang zur Telophase. SAAE. EHF.  
 Fig. 19—21. Telophase. SAE. EHF.  
 Fig. 22. Zellteilung und Beginn der Tochterkernkonstruktion. SA. EHF.  
 Fig. 23, 24. Junge Tochtertiere, Rekonstruktion der Tochterkerne, Bildung von Rhizoplast und Ringk. I. SAE. EHF.

## Tafel 16.

*Bodo lacertae*. 1950 mal. Nach dem Leben.

- Fig. 25. Normaltypus.  
 Fig. 26 a—p. Teilung. Zeitangabe über jeder Teilfigur. c, h Aufsicht vom Geißelpol.  
 Fig. 27. *Chilomastix aulastomi* nach dem Leben. 1950 fach.

## Tafel 17.

*Chilomastix aulastomi*. Vergr. 2300 fach.

Bis auf Fig. 36 nach Eisenhämatoxylinpräparaten.

- Fig. 28. Vegetative Form. Habitusbild. Fl.  
 Fig. 29. Beginn der Chromosomenbildung. SAE.  
 Fig. 30. Prophase. Rückbildung des Cytostoms. SAE.  
 Fig. 31, 32. Lageveränderung des Kernes. Konzentration der Chromosomen. Wanderung der Centriolen. SAE.  
 Fig. 33, 34. Ausbildung der extranucleären Halbspindeln. SAAE.  
 Fig. 35. Metaphase. Rechts Teilung des Centriols und Bildung der neuen Geißeln. SA.  
 Fig. 36. Metaphase. SA., Methylgrün-Fuchsin-Orange G (Äquatorialplatte blaugrün, Spindel rot).  
 Fig. 37. Metaphase. Rechts haften noch die alten Geißeln an. Fl.  
 Fig. 38. Anaphase. Rechts oben drei alte Geißeln anhaftend. Fl.  
 Fig. 39. Telophase. Teilung der Centriolen und Neubildung der Geißeln. Rechts Auswachsen der Stütz fibrille. Fl.  
 Fig. 40. Telophase. Auflösung der alten Kernmembran. Auswachsen der Stütz fibrille. Geißelbildung. SAA.  
 Fig. 41, 42. Rekonstruktion der Tochterkerne. Neubildung der Geißeln und der Cytostomfibrillen. SAE.  
 Fig. 43. Zellteilung. SAAE.  
 Fig. 44. Junges Tier. SAE.  
 Fig. 45. Cyste. SA.

## Tafel 18.

*Colloidietyon triciliatum*. Vergrößerung bis auf Fig. 48 1350 fach.

- Fig. 46, 47. Habitusbilder nach dem Leben.  
 Fig. 48. An das Deckglas angeheftetes Tier, nach dem Leben. Vergr. 650 fach.  
 Fig. 49. Habitusbild nach Präparaten. SA. EH.  
 Fig. 50. Desgl. PE. EH.

Fig. 51. Riesenindividuum. SAA. Giemsa.

Fig. 52, 53. Habitusbilder von Teilungsstadien. SAA. EH.

Tafel 19.

*Collodictyon triciliatum*. Kernteilung.

Mit Ausnahme der Figuren 57, 62, 70, 79 und 80 Eisenhämatoxylinpräparate. Vergrößerung durchweg 2300fach. Es ist nur der vordere Körperpol gezeichnet.

Fig. 54. Ruhekern mit Centriol. Geißelstruktur. PE.

Fig. 55. Desgl. SAAE.

Fig. 56. Kern eines Riesenindividuums. Chromatinanhäufung um das Centriol. Strahlung. PE.

Fig. 57. Desgl. Chromatin diffus. Strahlung. SAE. MFO.

Fig. 59—61. Prophase. SAAE.

Fig. 62. Übergang zur Metaphase. SAE. MFO.

Fig. 63. Junge Spindel mit Polstrahlung. SAAE.

Fig. 64. Ringbildung des Chromatins. PE.

Fig. 65. Fertige Äquatorialplatte. Polstrahlung. SAE.

Fig. 66. Typische Metaphase. SAE. überfärbt!

Fig. 67. Metaphase eines Riesenindividuums. Teilung der Chromosomen. Caryosomrest. SAAE.

Fig. 68. Äquatorialplatte eines Riesenindividuums. Polansicht. Polstrahlung. Caryosomrest. SAE.

Fig. 69. Äquatorialplatte. Polansicht. SAA.

Fig. 70. Anaphase. SAE. MFO. Chromosomen blaugrün. Caryosom schmutzigg-violett. Spindel rot.

Fig. 71. Assymetrische Anaphase. SAAE.

Fig. 72—74. Anaphase. SAAE, überfärbt.

Fig. 75. Beginn der Telophase. Struktur der Tochterplatten. SAE.

Fig. 76. Desgl. bei einem Riesenindividuum. Caryosomreste. PE.

Fig. 77, 78. Telophase.

Fig. 79, 80. Rekonstruktion des Caryosoms. SAMFO.

Fig. 81. Desgl. Kern des linken Tochtertieres von Fig. 53. SAAE

Fig. 82, 83. Desgl. SAE.

Fig. 84. Junger Kern. SA.

Nachdruck verboten.  
Übersetzungsrecht vorbehalten.

## Kleinere Mitteilungen.

---

### Bemerkungen zu *Spirulina* TURP.

Von  
Günther Schmid.

---

Im Jahrgang 1912 (24. und 26. Band) dieses Archivs haben M. ZUELZER und CH. DOBELL gelegentlich ihrer Untersuchungen über die Verwandtschaftsverhältnisse der Spirochäten Stellung zu der Frage genommen, ob die Spirulinen, also Cyanophyceen von ausgezeichneter korkzieherförmiger Gestalt und Beweglichkeit, ein- oder mehrzellig seien. DOBELL entscheidet sich für Einzelligkeit, ZUELZER ebenso bestimmt für die Mehrzelligkeit.

Die Grundlage für diese Angelegenheit schuf letzten Endes vor langer Zeit STIZENBERGER durch die Abtrennung einer neuen Gattung, *Arthrospira* STIZENB., von der Gattung *Spirulina* TURPIN's. Das geschah bereits 1854 und ist in der botanischen Zeitschrift *Hedwigia*, I. Band S. 32—34, zu lesen. *Arthrospira* umfaßt die gegliederten, d. h. mehrzelligen Spiralfäden, *Spirulina* die ungegliederten, die einzellig sind. Von den späteren Forschern werden die beiden Gattungen dann verschieden behandelt, bald auseinandergehalten, bald zusammengezogen, bis GOMONT, der bekannte Monograph der Oscillarien und verwandten Formen, der STIZENBERGER'schen Einteilung nachdrücklich zu neuem Leben verhalf. Nach GOMONT sind unter den 15 Gattungen der Oscillarien (im weiteren Sinne) die Spirulinen als Einzeller einzig dastehend, und durch die Monographie verschaffte er dieser Auffassung allgemeine Geltung. Ihr schließt sich auch DOBELL in oben genannter Arbeit an. Anders MARGARETE ZUELZER. Ihre Untersuchungen geschahen zu gleicher Zeit, aber unabhängig

von denjenigen DOBELL's, und die erste Mitteilung darüber legte sie bereits einige Zeit vor der Veröffentlichung des englischen Forschers im Zoologischen Anzeiger (35. Band, 1910) vor. ZUELZER untersuchte 3 *Spirulina*-Arten und zum Vergleich *Arthrospira Jenneri* STIZENB. Sie stellte das deutliche Vorhandensein von Querwänden im Faden, also die Mehrzelligkeit, fest, indem sie bei 40° mittels Trypsin die Zellinhalte verdauen ließ. DOBELL konnte noch auf ZUELZER's Ergebnis Bezug nehmen. Er glaubt, daß ZUELZER irreführt worden sei und zwar dadurch, daß ihr nicht *Spirulina* sondern *Arthrospira* vorgelegen hätte und betont mit Nachdruck (a. a. O. S. 193): „whatever the length of the filament may be, it never shows any transverse septa dividing it into „cells“. The protoplasm is continuous from end to end and the organism is thus markedly different from an *Arthrospira* or an *Oscillatoria*“. Ihm stand nur eine Art zur Verfügung, *Spirulina versicolor* COHN, welche vielfach so dicht gedreht ist, daß die Windungen sich gegenseitig berühren. Der Faden kann, wie er glaubt (S. 185), die ansehnliche Länge von 1½ Millimetern erreichen. Auch DOBELL hat den Organismus allerlei Verfahren unterworfen. Er hat sie fixiert und gefärbt, z. B. mit Heidenhain's und Weigert's Eisenhämatoxylin, mit Grenacher's Borax-Karmin, Safranin, Eosin, Orange-G, Methylenblau usw. Er hat auch Neutralrot benutzt (S. 191), über das ich unten sprechen werde. Über den Ausfall mit Neutralrot sagt er nur, daß die Granula des zentralen Teiles intravital rot gefärbt würden. DOBELL glaubt als Beweis gegen ZUELZER in GOMONT eine wesentliche Stütze zu haben (vgl. S. 182/183, Fußnote). Nun sollte aber gerade GOMONT für feinere Untersuchungen, wie die neuere Forschung sie erheischt, nicht mehr herangezogen werden. GOMONT war Herbarist und arbeitete nur oder fast ausschließlich nach den getrockneten, zum Teil schon recht alten Herbarstücken seiner Sammlung oder der Exsiccatenwerke. Außerdem waren zu seiner Zeit die technischen Hilfsmittel begrenzter oder ihm fremd.

Ich nehme zu der ganzen Frage hier noch einmal Stellung, weil ich glaube, daß man mit einem einfachen Mittel in jedem Fall, für frische und getrocknete Stücke, wird entscheiden können, ob eine vorliegende *Spirulina*-form mehrzellig oder einzellig ist, und weil ich zufällig in einer *Oscillarien*-probe einige lebende *Spirulinen* antraf, die ich gut für eine Prüfung gebrauchen konnte. Ich verwende eine beliebige wässrige Auflösung von Neutralrot (Dr. GRÜBLER, Leipzig), z. B. 0,2 Proz., die tiefrot aussieht.

Meine *Spirulina* stammte aus einem 50–65° C warmen Fabrikteich in Düsseldorf und stimmte bei sorgfältiger Bestimmung voll-

kommen mit der *Spirulina Nordstedtii* GOMONT's überein.<sup>1)</sup> Es sind also echte Spirulinen, wie sie die bisherige Systematik, vor allem die GOMONT'sche Systematik, vorschreibt. Ich verweise wegen der einzelnen Merkmale auf die Berichte der deutschen botanischen Gesellschaft, 28. Bd. (1920), wo ich die Form noch einmal beschrieben habe. Wesentlich ist hier, daß eine Gliederung des Spiralfadens durch quergestellte Zellwände oder Einschnürungen ohne Färbung nicht zu erkennen ist. Daß dies nicht möglich ist, führe ich einerseits auf einige erschwerende Umstände für den Beobachter und auf die Natur des Gegenstandes andererseits zurück. Die Spirulinen sind sehr fein, was die eigentliche Fadendicke betrifft; die bisher so genannten Arthrospiren sind durchweg viel breiter; die gewundenen Fäden machen durch die fortwährenden Überschneidungen der Umgänge das Beobachten unübersichtlich und ungewiß. Ausschlaggebend sind aber sicher auch die Lichtbrechungsverhältnisse der Querwände verglichen mit denjenigen des Zellinhaltes, vielleicht auch zu denen der Längsmembran. Möglicherweise spricht auch die Natur der Membranen selber mit. Ich verweise darauf, daß bei den Oscillarien die Dinge manchmal ganz ähnlich sind und die Querwände bei gewissen Arten sehr schwer zu erkennen sind, was besonders hinderlich wird, wenn man die Zelllängen durch den Abstand zweier Wände messen will.

Die Neutralrotlösung läßt bei Oscillarien wie bei den Spirulinen die Zellwände deutlich hervortreten. Man saugt ohne vorherige Fixierung einen Tropfen der dunkelroten Flüssigkeit unter dem Deckglas durch und läßt gleich darauf Wasser folgen. *Spirulina Nordstedtii* GOM. färbte sich schneller als gleichzeitig anwesende kleinere Oscillarien (*Oscillatoria formosa*, *O. chalybea*). Der Zellinhalt der *Spirulina* wird wie bei den Oscillarien rot, die Granula heben sich stärker ab, und in regelmäßigen Abständen tauchen als helle schmale (weniger oder gar nicht gefärbte?) Querstreifen die Querwände auf. Die Grenzen der Wände gegen den Inhalt sind dadurch deutlich, daß hier öfter diesseits und jenseits kleine Körnchen liegen. Bei Druck auf das Deckglas zerspringt vielfach der Schraubensaden in Stücke, die sich just dort rechtwinklig zur Längswand abtrennen, wo die Quermembranen ansitzen. Bei meiner *Spirulina Nordstedtii* waren die einzelnen Zellen einen halben bis dreiviertel Windungsumgang lang. Möglich, daß die Düsseldorfer Fäden sich gerade in Teilung befunden haben, denn sie unterscheiden sich in der Zelllänge von den gleich zu behandelnden anderen Spirulinen,

<sup>1)</sup> Die Oscillarienprobe (*Oscillatoria formosa* GOM., *O. chalybea* MERT. etc.), in der die *Spirulina* vorkommt, verdanke ich Herrn Dr. HELLMUTH SIMONS, Assistent am biochemischen Institut der Akademie für prakt. Medizin in Düsseldorf.



deren Zellen je einen ganzen Umgang lang sind. Es soll daraus kein Artunterschied abgeleitet werden.

Es mußte mir natürlich daran liegen, durch maßgebende Algologen verbürgte Spirulinen aus Herbarien in derselben Weise zu prüfen. In L. RABENHORST'S Exsiccatenwerk „Die Algen Sachsens resp. Mitteleuropas“, Dresden 1852, 1859 ist unter Nr. 895 eine Probe unter dem Namen *Spirulina gracillima* RABENH. ausgegeben worden, welche GOMONT nachgeprüft hat und der *Spirulina Meneghiniana* ZANARDINI gleichsetzte, ebenso unter Nr. 250 eine *Spirulina solitaria* Ktz., die nach GOMONT *Spirulina major* Ktz. ist. Ich konnte beide Formen mit Neutralrot behandeln. Sie standen mir in ebenderselben RABENHORST'Schen Ausgabe aus der Sammlung des botanischen Instituts der Universität Halle zur Verfügung. Ich brauchte nur eine kleine vom Papier abgekratzte Probe mit der Farblösung einige Zeit stehen zu lassen, die Lösung abnehmen und durch Wasser zu ersetzen. Die vorher der ganzen Länge nach gleichmäßigen Fäden werden deutlich septiert. Hier war keine Granulation erkennbar (worauf ich kein Gewicht legen will). Die Querwände traten sogar deutlicher als bei *Sp. Nordstedtii* hervor. Wie schon oben bemerkt, waren hier die Zellen je einen Bogenumgang lang.

Zusammen mit den ZUELZER'Schen Befunden liegen somit 6 verschiedene *Spirulina*-Arten vor, die mehrzellig sind. Ich glaube zu der Vermutung berechtigt zu sein, daß alle bisher beschriebenen Spirulinen septierte Fäden vorstellen und aus dem Reich der Einzeller auszuschneiden haben. Höchstens für die ganz kurzen Formen möchten Zweifel aufkommen. Doch es gibt, soweit ich das übersehe, nur eine Form, die man heranziehen könnte: *Spirulina abbreviata* LEMMERM. Diese aber verfügt nach LEMMERMANN'S Abbildung (Kryptogamenflora der Mark Brandenburg. III. Bd., Leipzig 1910, S. 91, Abb. 13) immerhin über zwei Schraubenumgänge. Nach Analogie der von mir untersuchten 3 Spirulinen ließe sich auch hier auf 2, vielleicht sogar 4 Zellen schließen.

Es fragt sich, wie der gegenteilige Befund DOBELL'S bei *Spirulina versicolor* COHN, die auch ZUELZER u. a. untersucht hat, möglich gewesen ist. Der Gedanke kommt einem, daß DOBEL und ZUELZER unter gleichem Namen verschiedene Organismen vor sich gehabt haben. Oder gibt es verschiedene Ausbildungen derselben Art, septierte oder unseptierte Fäden, je nach den Lebensbedingungen? Näher scheint mir ja die Vermutung zu liegen, daß die von DOBELL angewendeten Verfahren, insbesondere die Vorbehandlung durch Fixierung, der unterschiedlichen Färbung und der Beobachtung der Zellquerwände ungünstig sind.

*Nachdruck verboten.  
Übersetzungsrecht vorbehalten.*

(Aus dem Georg Speyer-Haus zu Frankfurt a. M.)  
(Direktor: Geh. Med.-Rat Prof. Dr. W. KOLLE.)

## **Die Gelatinierbarkeit des Protoplasmas als Grundlage eines Verfahrens zur Schnellanfertigung gefärbter Dauerpräparate von Infusorien.**

Von

**Prof. Dr. E. Bresslau,**  
Mitglied des Georg Speyer-Hauses.

(Hierzu Tafel 20 und 1 Textfigur.)

Das Verfahren, über das ich hier berichten möchte, ist alt, aber die Art seiner Anwendung ist, wie ich glaube, neu, und die Resultate, die es liefert, sind verblüffend.

Es handelt sich um nichts anderes als um das bekannte Ausstrichverfahren, wie es besonders zur Herstellung von Blut- und Bakterienpräparaten seit langem angewandt wird. Bei der Anfertigung von Blutpräparaten müssen die Ausstriche allerdings, bevor sie mikroskopisch untersucht werden können, noch mannigfachen weiteren Prozeduren unterworfen werden. In der Bakteriologie dient es aber bereits als richtiges Schnellverfahren, da die Bakterien nur mit Tusche oder dem von EISENBERG (Centralbl. Bakt. Paras. I. Ref. 54, Beiheft, S.145, 1912) unter dem Namen „Cyanochin“ eingeführten Farbgemisch<sup>1)</sup> ausgestrichen zu werden brauchen, um sofort nach dem Erstarren des Ausstrichs und Einschluß in Zedernholzöl oder Kanadabalsam zur Untersuchung fertig zu sein.

<sup>1)</sup> 3 Teile gesättigte wässrige Chinablaulösung + 1 Teil gesättigter wässriger Cyanosinlösung. Das Gemisch ist von dem Chem. Laboratorium Dr. K. HOLLBOHN in Leipzig, Kronprinzenstr. 71, (vorm. Dr. G. GRÜBLER) gebrauchsfertig zu beziehen.

### Auffindung und Technik des Verfahrens.

Zur Anwendung des Verfahrens auf Ciliaten führte mich ein Zufall. Nachdem ich bei meinen Hüllenbildungsversuchen an Colpidien (BRSSLAU, Naturwissenschaften 9, S. 57—62, 1921) mit Tuschelösungen so gute Erfolge erzielt hatte, schien es mir angezeigt, auch einmal das Cyanochin nach dieser Richtung hin zu prüfen. Für die Hüllenbildung ergab sich dabei allerdings nichts Neues. Dagegen zeigte sich zu meiner Überraschung, daß die zum Zwecke dieser Versuche angefertigten einfachen Cyanochinausstriche der Colpidien ohne jede weitere Behandlung Präparate von geradezu wundervoller Schönheit lieferten. Wir Zoologen pflegen nun einmal durch unsere mikrotechnische Ausbildung in der Vorstellung befangen zu sein, daß Objekte von der Größe und Organisationshöhe der Ciliaten nur „feucht“ zu gefärbten Dauerpräparaten verarbeitet werden können und also zwecks Fixierung, Härtung, Färbung, Differenzierung, Entwässerung usw. bis zum Einschluß in den Balsam eine große Anzahl verschiedener Flüssigkeiten passieren müssen. So gestehe ich denn gern, daß es mir völlig unerwartet war, als ich gleich nach dem zufälligen Lufttrocknen meiner ersten Präparate bemerkte, wie infolge des Ausstreichens der Tiere in dem Farbengemisch alle jene verschiedenen Prozesse in einem einzigen kurzen Akt von einer halben bis höchstens einer Minute Dauer erledigt waren, indem die Tiere ebenso ausgezeichnet fixiert wie prachtvoll gefärbt und obendrein einschluß- und untersuchungsbereit waren.

Angesichts dieses Ergebnisses war es selbstverständlich, daß ich versuchte, auch von anderen Infusorien derartige Präparate herzustellen. Dies gelang zwar bei einer ganzen Anzahl Arten recht gut, so z. B. bei *Paramaecium aurelia*, *Cinetochilum margaritaceum*, *Cryptochilum nigricans* usw., bei anderen Spezies dagegen war der Erfolg weniger günstig, oder es scheiterten gar alle Bemühungen. Das Cyanochin besitzt nämlich — und zwar hauptsächlich durch seinen Cyanosingehalt (s. Anm. 1) — eine gewisse Giftigkeit, der gegenüber viele Formen nicht genügend resistent sind, so daß die Tiere in dem Farbausstrich unter Zerplatzen zugrunde gehen, ehe er erstarrt und damit unschädlich wird.

Um den Anwendungsbereich des Verfahrens zu vergrößern, mußten daher Farbstoffe ausfindig gemacht werden, deren Lösungen bei gleicher oder womöglich noch größerer Geeignetheit zu Ausstrichen weniger giftig waren als die Bestandteile des Cyanochins. Dies glückte denn

auch nach längeren Versuchen, bei denen zahlreiche Farbstoffe durchprobiert wurden. Unter den geprüften blauen Farbstoffen erwies sich das von den Höchster Farbwerken hergestellte, dem Chinablau des Cyanochingemisches nahestehende „Opalblau grl.“<sup>2)</sup>, das ich durch freundliche Vermittlung von Herrn Dr. E. KÖNIG (Höchst a. M.) in besonders gereinigter Form erhielt, am geeignetsten, da es selbst in konzentrierter Lösung für die meisten Ciliaten fast gänzlich indifferent ist. Von roten Farbstoffen bewährte sich am besten das gleichfalls von den Höchster Farbwerken hergestellten „Phloxinrhodamin S Ia“<sup>3)</sup>, das bei bedeutend geringerer Giftigkeit und leichter Löslichkeit dem Cyanosin hinsichtlich seiner färberischen Eigenschaften durchaus ebenbürtig ist. Das Opalblau wird in 10 prozentiger, das Phloxinrhodamin in 6,5 proz. Lösung verwandt<sup>4)</sup>, und zwar setzt man jeweils zu 1 ccm Opalblaulösung, die man in ein Reagenzglas abfüllt, etwa 4—6 Tropfen der Phloxinrhodaminlösung, wobei man zweckmäßigerweise von Fall zu Fall ausprobiert, wieviel Tropfen der letzteren Lösung in Verbindung mit dem Opalblau bei der betreffenden Infusorienart die schönsten Präparate liefern. Im übrigen gelangt die Opalblau-Phloxinrhodaminmischung ebenso wie das Cyanochin stets in unverdünntem Zustande zur Anwendung. Kurz vor Gebrauch empfiehlt es sich jeweils durch rasches, einmaliges Aufkochen die in den konzentrierten Farbgemischen etwa ausgeflockten Farbstoffteilchen wieder zur Lösung zu bringen.

Mit diesen Farblösungen gestaltet sich nun das Verfahren folgendermaßen: Man bringe einen möglichst kleinen Tropfen der Kultur mit den zu untersuchenden Tieren in vivo auf einen gut gereinigten Objektträger und setze daneben einen ungefähr gleich großen Tropfen unverdünntes Cyanochin, oder besser noch Opalblau-Phloxinrhodamin, verrühre beide Tropfen miteinander und streiche dann das Gemisch, ohne die Tiere zu verletzen, vorsichtig in dünner Schicht aus. Zum Mischen und Ausstreichen bedient man sich am besten einer Drahtschlinge, die man sich leicht aus etwa 1 mm starkem Kupferdraht herstellen kann und in einem Nadelhalter be-

---

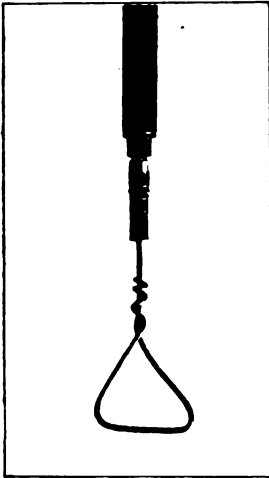
<sup>2)</sup> Das Opalblau grl. gehört wie das Chinablau zur Gruppe der sulfurierten Rosanilinfarbstoffe und zwar ist es im wesentlichen eine Disulfosäure des Triphenylpararosanilins.

<sup>3)</sup> Das Phloxinrhodamin ist laut Angabe der Höchster Farbwerke das Natriumsalz der Dichlordiäthylrhodaminsulfosäure.

<sup>4)</sup> Beide Lösungen sind ebenfalls gebrauchsfertig von Dr. K. HOLLBORN-Leipzig, Kronprinzstr. 71, zu beziehen.

festigt (Textfig. 1)<sup>5)</sup>. Darauf läßt man das Präparat lufttrocken werden und kann es nun sofort in Öl oder Kanadabalsam einschließen.

Vorbedingung für die Erzielung guter Präparate ist, daß die Dicke der Ausstriche zu den Dimensionen der betreffenden Tiere in richtigem Verhältnis steht. Ist der Ausstrich zu dünn, so zerplatzen infolge der sich dann geltend machenden Oberflächenkräfte leicht auch solche Tiere, die sonst vorzüglich für das Verfahren geeignet sind. Ist der Ausstrich zu dick, so werden die Tiere von einer Farbstoffschicht überlagert, die ihre Untersuchung stört. Man lernt aber meist schon nach wenigen Versuchen (am besten mit *Paramäcien*), die Ausstriche in der richtigen Dicke anzufertigen.



Textfig. 1.

Drahtschlinge zum Ausstreichen.

Verfolgt man bei *Paramäcien*, *Colidien*, *Cinetochilum* oder anderen resistenteren Ciliaten unter dem Mikroskop, was in der kurzen Zeit nach dem Ausstreichen der Tiere in der Farblösung bis zu Lufttrockenwerden des Ausstrichs geschieht, so bemerkt man das folgende: Zunächst schwimmen die Tiere in der Farblösung eine Weile hin und her, wobei ihr Plasma durch die Kontrastwirkung gegen die sie umgebende blau-violette Farblösung, wie im Dunkelfeld gesehen, prachtvoll aufleuchtet. Häufig injiziert sich dabei vom Munde aus der Cytopharynx und das System der Nahrungsvakuolen mit dem Blau des Farbgemisches, nicht selten werden ebenso auch die pulsierenden Vakuolen schön zur Darstellung gebracht. Bei *Cinetochilum*, *Paramecium* usw. schleudern die Individuen in der Regel gleichzeitig ihre Trichocysten aus. Binnen wenigen Sekunden beginnt der Ausstrich durch Wasserverdunstung vom Rande her allmählich zu erstarren. Dabei verlangsamen die Bewegungen der Tiere. Bald danach stehen sie ganz still. Doch dauert der Wimperschlag zunächst noch ein Weilchen fort, am längsten gewöhnlich in der Cytostomgegend. Wann der Tod der Tiere eintritt,

<sup>5)</sup> Das Instrument stellt eine etwas vereinfachte Modifikation des Drahtdreiecks dar, das MOLISCH bei der von ihm eingeführten Einschlußmethode mikroskopischer Präparate in venetianischem Terpentin verwendet (vgl. H. MOLISCH, *Mikrochemie der Pflanze*, 2. Aufl., 1921, p. 23. Jena, G. Fischer).

ist schwer zu entscheiden. Jedenfalls endet ihr Leben spätestens in dem Augenblick, wo die sie umgebende, vorher flüssige Farblösung fest geworden ist, wobei die Tiere fast immer getreu und plastisch die Gestalt bewahren, die sie zuletzt zeigten. Zugleich imprägnieren sich beim Lufttrockenwerden des Ausstrichs die Pelli-  
culastrukturen der Tiere mehr oder minder vollständig mit Farbe, und zwar wiederum mit der blauen Komponente des Farbgemisches. Auf diese Weise treten die Felderungen und Streifen der Außenhaut und die Wimpernbasen oft ganz wundervoll zutage, bisweilen auch die Cilien selbst und die Granula in den Rippenstreifen des Ectoplasmas usw., ebenso in der Regel das Cytostom mit seinen Membranellen, ferner der Cytopharynx und die Vakuolensysteme. In schöner Kontrastwirkung hierzu bewirkt die rote Komponente des Farbgemischs eine zarte rosa Tönung des Plasmas und, falls im Moment des Todes der Tiere die Farblösung noch nicht ganz erstarrt ist, bisweilen auch noch eine deutliche Färbung des Groß- und Kleinkerns<sup>6)</sup>. Ich verweise dieserhalb auf Fig. 1 und 2 der Tafel, obwohl die Abbildungen nur einen schwachen Begriff von der Schönheit der Präparate geben können, deren Farbenwirkung auch in ästhetischer Hinsicht ausgezeichnet ist. Überall ist die Cilienanordnung und die dadurch bedingte, charakteristische Körperstreifung vorzüglich dargestellt. Besonders eindrucksvoll erscheint mir in dieser Beziehung das in Fig. 2 wiedergegebene Photogramm von *Paramaecium aurelia*, aus dem man ohne weiteres das verschiedene Verhalten der Streifensysteme zu beiden Seiten des Mundes und ihr Zusammenstoßen in einer vom Cytostom aus nach vorn verlaufenden Naht erkennen kann, Verhältnisse, die sonst nur sehr mühsam am lebenden Objekt zu studieren und m. W. bisher überhaupt nur einmal, von BÜTSCHLI in Textfig. 12, p. 1282 seines großen Protozoenwerkes, richtig (wenn auch schematisch) abgebildet worden sind.

Nicht alle Ciliaten ertragen jedoch das langsame Lufttrockenwerden der Ausstriche so gut wie *Paramaecium* und die anderen vorgenannten Arten, selbst wenn man dazu das Opalblau-Phloxin-

<sup>6)</sup> Diese Kontrastfärbung von Plasma und Kern ist der Hauptgrund, warum sich der Zusatz des Phloxinrhodamins zum Opalblau empfiehlt. Wo kein Wert darauf gelegt wird, kann man den roten Farbstoff ruhig fortlassen und die Tiere allein in 10proz. Opalblaulösung austreichen, zumal da dieses, wie schon gesagt, nahezu vollkommen indifferent ist, während das Phloxinrhodamin immerhin einen wenn auch geringen Grad von Giftigkeit besitzt. Allerdings beeinträchtigt der Fortfall der roten Tönung durch das Phloxinrhodamin auch etwas die ästhetische Wirkung der Präparate, da das Opalblau für sich allein einen sehr kalten Farbenton ergibt.

rhodamingemisch (oder Opalblau allein) nimmt. Vielmehr kann man beobachten, daß die Tiere nach der Überführung in die Farbblösung zwar zunächst keine Schädigung erkennen lassen, dann aber mit einemmal zerplatzen, kurz ehe der Ausstrich zu erstarren beginnt. Augenscheinlich stellen sich also bei der mit dem Festwerden verbundenen Zustandsänderung des Ausstrichs irgendwelche Bedingungen (s. unten S. 477) ein, die bei manchen Spezies den Tieren gefährlich werden. Hierdurch wird jedoch die Anwendung des Ausstrichverfahrens bei diesen Arten keineswegs unmöglich gemacht. Vielmehr läßt sich die Schwierigkeit leicht umgehen, indem man einfach den Erstarrungsvorgang beschleunigt und so den Tieren keine Zeit zum Zerplatzen läßt. Man bewerkstelligt dies entweder so, daß man den Objektträger lebhaft hin und her schwenkt, oder mit einem Fächer Luft zuweht, oder noch besser dadurch, daß man mit einem sog. „Fön“, dem bekannten Haartrocknungsapparat der Friseure, warme Luft über das Präparat bläst<sup>7)</sup>. Auf diese Weise kann man in wenigen Augenblicken selbst von so empfindlichen Arten wie z. B. *Spirostomum ambiguum* Präparate herstellen, die lange Strecken der Wimperreihen genau in der Haltung fixiert zeigen, die sie bei ihrem letzten Schlage einnahmen (Fig. 3). Sehr instruktiv sind auch die in Fig. 4 und 5 wiedergegebenen Bilder von *Colpoda steini*, die sich beide auf dasselbe Individuum beziehen. Fig. 4 zeigt die linke Seite bei hoher Einstellung, Fig. 5, durch das ganze Tier hindurch photographiert, die rechte Seite bei tiefer Einstellung. Man erkennt u. a. daß an dem wie lebend fixierten Tiere, dessen Wimpern sämtlich erhalten sind, immer je 2 Cilien zusammen in einem Grübchen der Pellicula entspringen.

Durch den geschilderten Kunstgriff, der das Ausstrichverfahren auch für sehr empfindliche Formen praktikabel macht, wird sein Anwendungsbereich auf nahezu die ganze Klasse der Ciliaten erweitert. Nur bei den mit starker Kontraktilität begabten Arten ergeben sich Schwierigkeiten, indem die Tiere sich vor dem Er-

<sup>7)</sup> Ich möchte jedoch darauf hinweisen, daß überall, wo die Tiere es ertragen, das langsame Lufttrocknen der Ausstriche unbedingt vorzuziehen ist, um jeden unnötigen Wasserverlust und die dadurch bedingte Schrumpfung zu vermeiden. Aus demselben Grund achte man auch bei der Anwendung des Föns darauf, dem Farbausstrich nicht rascher und nicht mehr Wasser zu entziehen, als es die Fixierung der betr. Ciliaten unbedingt erfordert. Man lernt sehr leicht, das richtige Maß dabei zu halten, da man, während der Fön arbeitet, das Präparat unter dem Mikroskop bei schwacher Vergrößerung beobachten und so die Wirkung des darüber geblasenen Luftstroms direkt verfolgen kann.

starren meist kugelförmig zusammenzuziehen pflegen und dann bei dem Festwerden häufig platzen (Formen mit weicher Pellicula: Stentorarten) oder aber jede Imprägnierung mit Farbe ablehnen (Formen mit derber Pellicula: Vorticelliden). Aus den gleichen Gründen mißlingt in der Regel auch die Übertragung des Verfahrens auf kleinere vielzellige Tiere. Dagegen lassen sich außer den Ciliaten viele andere Protozoen zu Ausstrichpräparaten verarbeiten, wie dies ja im Prinzip seit langem bekannt ist, insbesondere soweit Amöben, Trypanosomen usw. in Frage kommen. Es ist aber zu beachten, daß hierbei für das Gelingen der Färbung die Größe der Tiere (d. h. ihrer Oberfläche) von Wichtigkeit zu sein scheint. Unterhalb einer gewissen Minimalgröße findet beim bloßen Ausstreichen der lebenden Individuen, einerlei ob mit Cyanochin oder mit Opalblau-Phloxinrhodamin, keine Färbung mehr statt; vielmehr entstehen (z. B. bei Trypanosomen) nur Negativbilder wie beim gewöhnlichen Tuscheausstrich. Wo aber die Formen nicht zu klein sind und dabei charakteristische Oberflächenstrukturen besitzen, wie z. B. unter den Flagellaten viele Eugleninen (Fig. 6), bilden sie ausgezeichnete Objekte für das Verfahren.

Überhaupt liegt der besondere Wert des Verfahrens, abgesehen von der Einfachheit, Schnelligkeit und leichten Erlernbarkeit seiner Technik, in der guten Erhaltung der äußeren Formen und der vorzüglichen Darstellung der Pelliculastrukturen. Zum Studium dieser für die Systematik so wichtigen Merkmale wird das Verfahren sicher gute Dienste leisten, ebenso zur Herstellung von Demonstrations- und Kurspräparaten. Was die Erzielung von Kernfärbungen betrifft, so liefert das Verfahren einstweilen noch unsichere Resultate. Zur Untersuchung von Problemen, die sich mit dem Verhalten der Kerne beschäftigen, kommt es daher vorläufig nicht in Frage. Ich halte es aber nicht für ausgeschlossen, daß sich diese Schwierigkeit später beheben lassen wird, wie mir denn überhaupt das ganze Verfahren nach verschiedenen Richtungen hin allerhand Möglichkeiten zu weiterer Ausbildung und Entwicklung in sich zu tragen scheint<sup>9)</sup>.

<sup>9)</sup> Bei *Colpidium* (Fig. 1) und einigen anderen Arten läßt sich z. B. die Kernfärbung fast sicher dadurch erreichen, daß man zu dem Tropfen Opalblau-Phloxinrhodamin auf dem Objektträger einen Tropfen 2 Proz. Osmiumsäure zusetzt, ehe man ihn mit dem Tropfen der Colpidienkultur mischt und ausstreicht. Bei den meisten Ciliaten (auch bei *Paramecium*) führt diese einfache Modifikation jedoch nicht zum Ziele. Auf andere Abwandlungen des Verfahrens, die ich versuchte, möchte ich vorläufig nicht eingehen, da mich die damit erhaltenen Resultate noch nicht befriedigen.



Hinsichtlich der Dauerhaftigkeit der Ausstriche sei mitgeteilt, daß sich meine Cyanochinpräparate seit Dezember 1920, die Opalblau-Phloxinrhodaminpräparate seit März 1921 <sup>9)</sup> bis jetzt <sup>10)</sup> unverändert lichtecht gehalten haben.

### Theorie des Verfahrens.

Die überraschende Tatsache, daß Organismen von der Größe und Organisationshöhe der Ciliaten nach einfachem Ausstreichen in einer Farbstofflösung, die man lufttrocknen werden läßt, ohne jede weitere Behandlung Dauerpräparate von in ihrer Art hoher Vollkommenheit liefern, drängt zu der Frage, was für Vorgänge sich dabei mit und in den Organismen abspielen, und wie diese Vorgänge wohl zu verstehen sind. Wir kommen damit zu einer Erörterung der Theorie des Ausstrichverfahrens überhaupt, für die eigentlich längst schon das Bedürfnis gegeben war. Denn es ist klar, daß das, was im folgenden für Ciliaten ausgeführt werden wird, *ceteris paribus* auch für Ausstrichpräparate von Bakterien, Blutzellen, Trypanosomen, Amöben usw. Geltung hat. Nur scheint, soviel mir bekannt, die Sache bisher niemals von dieser Seite aus betrachtet worden zu sein. Und doch ist dies auch noch deswegen von besonderem Belange, weil dadurch zugleich neues Licht, auf gewisse physiko-chemische Eigenschaften des Protoplasmas geworfen wird. Ich kann allerdings in diesem Zusammenhange nur kurz auf ein paar Hauptpunkte hinweisen

In erster Linie ist die Rolle zu beachten, welche die Farbstoffe bei dem Verfahren spielen. Sowohl beim Chinablau wie beim Opalblau handelt es sich um hochkolloide Stoffe, welche die Eigenschaft besitzen, beim Verdunsten eines Teils des ihnen als Lösungsmittel dienenden Wassers gallertig zu erstarren. Infolgedessen wird beim Lufttrocknenwerden des Ausstrichs die dünne Schicht der Farbstofflösung in ein homogenes blaues Gallerthäutchen übergeführt (gelatinisiert), und zwar, wie bei allen Gelatinierungsvorgängen <sup>11)</sup> von Emulsoiden derart, daß die Überführung des ursprünglich tropfbar-

<sup>9)</sup> Ich verwende seit dieser Zeit nur noch das Opalblau-Phloxinrhodamin-gemisch.

<sup>10)</sup> Anm. bei der Korrektur: August 1921.

<sup>11)</sup> Ich gebrauche den Ausdruck „Gelatinierung“, um damit im Sinne W. OSTWALDS den hier vorliegenden Vorgang der Gallertbildung von Emulsoiden als reversible „innere“ Zustandsänderung gegenüber den sich als „äußere“ Zustandsänderungen kolloider Systeme darstellenden, im allgemeinen irreversiblen

flüssigen Systems der Farblösung in ein solches mit den Eigenschaften fester Körper durch gleichmäßig fortschreitende Viskositätserhöhung nicht sprunghaft, sondern in durchaus stetiger Weise erfolgt (vgl. W. OSTWALD, Grundriß der Kolloidchemie, 1910, S. 337 f.).

Die vollkommene Stetigkeit dieses Überganges ist nun von grundlegender Bedeutung für das Verständnis des Verfahrens, was die Fixierung der Tiere betrifft. Indem das die Ciliaten umgebende Medium trotz des an sich raschen Verlaufs des Erstarrungsprozesses nur ganz allmählich gelatiniert, kommt für die Tiere ohne jeden brüsken Übergang der Augenblick, wo der Fortbestand ihres Lebens nicht mehr möglich ist, — ganz anders wie bei den meisten anderen Fixierungsmethoden, einerlei ob sie sich thermischer oder chemischer Einwirkungen oder einer Kombination von beiden bedienen. Der Tod überrascht auch hier die Tiere, aber nicht, wie z. B. im Falle ihrer Fixierung mit heißer Sublimatlösung, durch jähen Abbruch ihrer Lebenskurve, sondern durch unmerkliche Integration an sich kaum schädlicher Zustandsänderungen, deren letzter Differentialwert die Kurve der Lebenserscheinungen zur Nulllinie herunterführt. Infolgedessen behalten die Tiere auch nach dem Tode im wesentlichen die Gestalt bei, die sie während ihres Lebens zuletzt zeigten. In dieser denkbar schonenden Art der Abtötung scheint mir ein besonderer Vorzug des Verfahrens zu liegen <sup>12)</sup>.

---

„Koagulationsvorgängen“, die mit weitgehender Entmischung verbunden sind, möglichst scharf zu charakterisieren. Dabei scheint es mir nicht wesentlich, daß Gelatinierung dem strengen Wortsinne nach eigentlich Gallertbildung infolge von Temperaturänderung (wie bei Gelatine) bezeichnet, während hier die innere Zustandsänderung durch Konzentrationserhöhung infolge Verdunstens eines Teils des Lösungsmittels herbeigeführt wird.

<sup>12)</sup> Daß ich in Anm. 8 empfohlen habe, u. U. der Farblösung vor dem Ausstreichen Osmiumsäure zuzusetzen, steht keineswegs hierzu in Widerspruch. Natürlich werden die Tiere alsdann nicht erst durch das Erstarren des Ausstrichs, sondern viel rascher abgetötet — was überhaupt der leitende Gedanke war, der zu dieser Modifikation führte, weil Kernfärbung nur eintritt, wenn der Tod der Tiere dem Erstarren vorangeht. Das macht aber selbstverständlich nichts aus, wenn, wie z. B. bei den Colpidium, bereits Osmiumsäure allein genügt, die Tiere unter vollkommener Erhaltung ihrer Körpergestalt abzutöten. Ein besseres Resultat könnte hier auch mit einem schonenderen Verfahren nicht erzielt werden. — Noch eines weiteren möglichen Einwandes sei hier gedacht: man könnte auf die Erfahrungen der Protozoologen hinweisen, wonach sich bei der Herstellung von Trypanosomenpräparaten usw. im Wege des Ausstrichverfahrens das Lufttrocknenlassen der Ausstriche nicht bewährt hat, so daß man statt dessen jetzt ganz allgemein die Feuchtfixiermethoden anwendet. Demgegenüber ist einmal

Dazu kommt aber noch ein Weiteres. Infolge der Wasserverdunstung, die das Erstarren des Farbausstrichs herbeiführt, findet nämlich gleichzeitig auch eine Gelatinierung des Plasmas der Ciliaten selbst statt, die ihren ursprünglich mehr oder minder weichflüssigen Körper ebenfalls in toto in feste Gallerte verwandelt. Es soll mich nicht wundern, wenn man dieser Behauptung zunächst mit einiger Skepsis begegnen wird; hatte ich doch selbst zunächst dies Ergebnis nicht erwartet, sondern angenommen, der Zelleib der nach dem Ausstrichverfahren präparierten Ciliaten behielte seinen ursprünglichen Zustand im wesentlichen unverändert bei und werde nur von einer ganz dünnen Schicht der erstarrten Farb-gallerte umhüllt und so fixiert. Genauere Untersuchung lehrte aber bald, daß dem nicht so ist. Schon bei meinen ersten Präparaten fiel mir auf, daß die Tiere viel widerstandsfähiger gegen Druck waren als die Tiere in den nach anderen Methoden hergestellten Präparaten und selbst bei ziemlich heftigem Druck auf das Deckglas nicht zerquetscht zu werden pflegten. Allerdings war daraus allein noch kein bestimmter Schluß zu ziehen, zumal da das elastische Gallerthäutchen des erstarrten Farbausstrichs sicherlich stets einen beträchtlichen Teil des auf das Deckglas ausgeübten Druckes abbremst. Nachdem aber einmal durch diese Beobachtungen der erste Eindruck geweckt war, schafften weitere, ganz einfache Versuche rasch völlige Gewißheit.

Wenn das Plasma der Tiere meiner anfänglichen Erwartung entsprechend seinen ursprünglichen weichflüssigen Zustand beibehalten hätte, so hätte es bei einem Zerreißen oder Zerschneiden des umhüllenden Farb-gallerthäutchens notwendigerweise ausfließen müssen. Das ist aber nicht der Fall. Man braucht nur einige

zu bemerken, daß, wie auf S. 477 des näheren begründet ist, die Ausstriche in Medien von geeignetem Gelatinierungsvermögen vorgenommen werden müssen, vor allem aber, daß sich meine Ausführungen, wie nicht übersehen werden darf, nur auf den Zustand beziehen, den die Präparate nach dem Erstarren (Gelatinieren) des Ausstrichs zeigen. Bringt man aber solche Präparate, wie das nach der bisherigen Übung mit den Trypanosomenausstrichen usw. zu geschehen pflegt, zwecks weiterer Behandlung (Färbung usw.) nachträglich wieder in Flüssigkeiten zurück, so erfährt — da es sich bei den Gelatinierungsprozessen um reversible Vorgänge handelt — auch der Zustand der ausgestrichenen Organismen weitere Veränderungen. Was dabei mit ihnen vor sich geht, ist ein Kapitel für sich, über das erst weitere Untersuchungen Aufschluß geben können, zumal da schon auf S. 473 angedeutet wurde, daß selbst bei dem hier beschriebenen Verfahren über die Darstellung und Erhaltung der Kernstrukturen zurzeit noch kein abschließendes Urteil möglich ist.

Paramäcien in Opalblau auszustreichen und nach dem Erstarren des Ausstriches mit einer feinen Glasnadel anzuritzen, um sich sofort davon zu überzeugen. Im ersten Augenblick nach dem Erstarren des Ausstriches zeigen die Tiere noch die Beschaffenheit einer sehr zähflüssigen Gallerte. Man kann sie mit der Glasnadel ganz leicht kreuz und quer durchritzen, ohne daß die kleinen auf diese Weise voneinander getrennten Plasmastücke zerfließen oder wieder zusammenfließen, was doch bei Bewahrung ihres ursprünglichen Zustandes unbedingt geschehen müßte. Versucht man das Gleiche einige Sekunden später an anderen Tieren desselben Ausstriches, so findet man, daß sie nicht mehr zähflüssig, sondern, ohne sonst ihr Aussehen verändert zu haben, zu fester Gallerte erstarrt sind. Man kann sie wohl noch zerschneiden, aber man merkt deutlich den Unterschied in der Konsistenz des Plasmas und beobachtet ferner häufig, daß die Schnittstücke abblättern, genau wie wenn man ein festes Gelatinehäutchen in derselben Weise zerschneidet. Es kann also gar keinem Zweifel unterliegen, daß das Protoplasma der Paramäcien in toto zu gelatinieren vermag, sofern man geeignete Versuchsbedingungen schafft.

Dazu gehört nichts weiter, als daß man die Tiere in ein Medium bringt, das gleichfalls die Eigenschaft besitzt, infolge von Wasserverdunstung gallertig zu erstarren. Ließe man die Tiere etwa nur in einem reinen Wassertropfen eintrocknen, so würden sie zerplatzen, ehe ihre eigene Gelatinierung beendet ist, weil ihre Pellicula von einem gewissen Augenblick an den Oberflächenkräften, die sich zwischen den Systemen Plasma-Wasser, Plasma-Luft, Plasma-Unterlage geltend machen und in ihrer Resultante dahin streben, die Tiere auf der Fläche des Objektträgers abzuplatten, nicht mehr Widerstand leisten kann. In dem gelatinierbaren Medium dagegen entwickelt sich durch seine bei der Wasserverdunstung stetig zunehmende innere Reibung (Viskosität) eine ganz andere Druckverteilung, die jener zum Zerplatzen drängenden Spannung Widerpart bietet, zumal wenn man, wo es nötig ist (d. h. bei Formen mit schwächerer Pellicula oder bei Formen aus deren plasmatischer Beschaffenheit höhere Binnendrucke erwachsen), das Erstarren beschleunigt, dessen Eintritt sofort die gesamte Oberflächenspannung der verschiedenen Systeme inaktiviert. Hier wird infolgedessen das Protoplasma unter Bedingungen gebracht, die gestatten, daß sich in ihm der Gelatinierungsprozeß vollziehen kann, ohne vorher durch fremde Einwirkungen, als welche wir jene Oberflächenkräfte aufzufassen haben, katastrophal gestört zu werden.

Selbstverständlich ist dabei Voraussetzung, daß das Medium, während es gelatinert, nicht zugleich schädliche Eigenschaften erlangt; es muß daher möglichst frei von Salzen sein, deren Konzentrationserhöhung Schrumpfung herbeiführen könnte. Ebenso wenig darf es natürlich cytolytisch wirken. Einen besonders gut zur Bereitung eines solchen Mediums geeigneten Stoff stellt das gereinigte Opalblau der Höchster Farbwerke dar. Schon rein theoretisch läßt sich aber nach dem Gesagten erwarten, daß nicht bloß Farbstoffe, sondern auch andere, ungefärbte Substanzen dafür in Frage kommen. In der Tat hat sich dies sofort durch entsprechende Versuche bestätigen lassen; ich kann aber hier darauf nicht näher eingehen, obwohl sich mancherlei Entwicklungsmöglichkeiten für das Ausstrichverfahren daraus ergeben.

Durch die Feststellung, daß gleichzeitig mit dem Farbausstrich auch die darin eingeschlossenen Ciliaten gelatinieren, lernen wir eine weitere Eigenschaft des Ausstrichverfahrens verstehen, die ihm besondere Bedeutung und Eigenart verleiht. Alle anderen mikrotechnischen Methoden führen nämlich stets zu einer Koagulation des Protoplasmas, d. h. zu einer radikalen „äußeren“ Zustandsänderung (W. OSTWALD), derart, daß das ursprünglich homogene System des Plasmas mit gleichmäßig verteilter disperser Phase weitgehend in eine feste und in eine flüssige Phase geschieden wird. Hier, beim Ausstrichverfahren, wo statt der Koagulation eine Gelatinierung des Protoplasmas erfolgt, ändert sich dagegen der äußere Zustand des Systems nicht. Es bleibt vielmehr homogen, wenn sich auch der innere Dispersitätsgrad etwas verringert, und vor allem unterbleibt jene weitgehende Entmischung von Lösungsmittel und disperser Phase. Nur so viel Lösungsmittel wird ausgeschieden, als nötig ist, um das System zur Gallerte erstarren zu lassen, während weitaus die Hauptmasse des im Plasma kolloid gebundenen Wassers in dieser Bindung weiter festgehalten wird. Man braucht nur an Agar-Agar oder an Gelatine, die schon in 2—5 proz. Lösungen, also mit 98—95 Proz. Wasser festwerden, zu denken, um sich ein Bild davon zu machen, wie gering u. U. der Wasserverlust sein kann, der bei dem Erstarren des Farbausstriches zur Gelatinierung der Ciliaten genügt. Damit erklärt sich ohne weiteres, wieso diese Art der Fixierung, wenn sie richtig angewendet wird, so gut wie gar keine Schrumpfung der behandelten Tiere herbeiführt, sondern ihnen fast ihre volle Plastik beläßt.

Gleichzeitig erklärt sich daraus die zunächst so überraschende Tatsache, daß nach dem Erstarren des Ausstrichs die Tiere sofort

in Öl oder Kanadabalsam eingeschlossen werden können. Während bei den sonst üblichen Fixationsmethoden vor Zusatz der Einschlußmedien aus den Tieren bzw. aus der durch die Koagulierung entmischten festen Phase ihres Plasmas (die von den Tieren allein übrig zu bleiben pflegt) auch die letzte Spur von Wasser durch besondere Manipulationen sorgfältig beseitigt werden muß, genügt hier das Verdunsten jener geringen Wassermenge, deren Schwund die Gelatinierung des Protoplasmas veranlaßt. Damit ist zugleich alles freie Wasser entfernt, das bei Zusatz von Öl oder Balsam in dem Einschlußmedium etwa emulgieren könnte. Das ganze übrige Quantum Wasser, das auch nach der Gelatinierung in den Tieren verbleibt, kommt hier beim Zusatz des Einschlußmediums als störender Faktor gar nicht in Frage, weil es in dem gelatinierten Plasma kolloid gebunden ist und also mit dem Öl oder Balsam keine Emulsion mehr bilden kann.

Das Gesagte dürfte zum Verständnis der beim Ausstrichverfahren sich abspielenden Vorgänge ausreichen. Der nach dem Ausstreichen sofort beginnende Gelatinierungsprozeß führt infolge der vollkommenen Stetigkeit seines Verlaufs zur schonenden Abtötung der Tiere. Weitere äußere Eingriffe, die die Tiere schädigen könnten, haben sie nicht mehr zu erleiden. Die Gelatinierung selbst bewirkt ihre Fixierung und Härtung unter Vermeidung jeder stärkeren Schrumpfung. Der Umstand, daß das gelatinierende Medium eine Farblösung ist, sorgt gleichzeitig für ihre Färbung. Und endlich wird bei der Gelatinierung auch die Entwässerung der Tiere herbeigeführt, die ihren sofortigen Einschluß in Öl oder Balsam ermöglicht. Ich glaube also nicht zu viel behauptet zu haben, wenn ich schon in dem Titel dieser Arbeit zum Ausdruck brachte, daß die Gelatinierbarkeit des Protoplasmas die Grundlage für das Ausstrichverfahren bildet.

---

### Tafelerklärung.

#### Tafel 20.

Alle Abbildungen geben Mikrophotogramme nach meinen Präparaten wieder, die von dem wissenschaftlichen Photographen des Speyer-Hauses, Herrn MAASS, aufgenommen wurden. Durch Retusche wurden Unregelmäßigkeiten des Hintergrundes beseitigt, ebenso wurden Einzelheiten, die das Präparat erkennen ließ, die aber infolge der Aufnahme der plastischen Objekte bei sehr starker Vergrößerung nicht scharf erhalten werden konnten, betont und hervorgehoben. Dabei wurde

selbstverständlich jede Schematisierung vermieden und nur Wert darauf gelegt, daß die Abbildungen — statt die Begrenztheit der mikrophotographischen Technik bei der Wiedergabe derartiger Objekte zu dokumentieren — das Aussehen der Präparate möglichst treu zum Ausdruck brachten. Eine völlig getreue Wiedergabe war allerdings auch so nicht zu erreichen; vielmehr bleiben die Abbildungen in den Einzelheiten noch immer durchweg hinter den Präparaten zurück.

Fig. 1. *Colpidium colpoda*, linke Seitenansicht, Ausstrich in Opalblau-Phloxinrhodamin + Osmiumsäure (s. Anm. 8). In den Wimperreihen stehen vielfach wohl-erhaltene Cilien. Groß- und Kleinkern gefärbt, letzterer (m) liegt dem Großkern (M) an seinem linken oberen Rande auf. Die pulsierende Vakuole (p) am Hinterende erscheint hier hell, da nicht mit blauem Farbstoff injiziert. Der dunkle Fleck rechts entspricht einer Nahrungsvakuole. c Cytostom. Vergr. 1200  $\times$ .

Fig. 2. *Paramaecium aurelia*, Ansicht von der Ventralseite, Ausstrich in Opalblau-Phloxinrhodamin. Die Einbuchtung an der im Bilde rechten Seite ist eine Zufälligkeit des Präparats. Trotzdem wurde gerade dieses Individuum abgebildet, weil es die für *Paramaecium* charakteristische Anordnung der Wimpergrübchen und ihre Lagebeziehungen zum Cytostom in besonders plastischer Weise erkennen ließ. Man beachte die vor dem Mund nach dem Vorderende ziehende Naht, in der die Wimperreihen von rechts und links zusammenstoßen.  $p_1$  System der vorderen,  $p_2$  der hinteren pulsierenden Vakuole. Vergr. 450  $\times$ .

Fig. 3. *Spirostomum ambiguum*, Hinterende eines in Opalblau-Phloxinrhodamin ausgestrichenen Individuums nach Föntrocknung. Die Wimpern stehen in Spiralfurchen, dazwischen granulaführende Rippenstreifen. Vergr. 1000  $\times$ .

Fig. 4 u. 5. *Colpoda steini*, Ausstrich in Opalblau-Phloxinrhodamin (mit Föntrocknung). Fig. 4, bei hoher Einstellung aufgenommen, linke Seite, Fig. 5 bei tiefer Einstellung durch das ganze Tier hindurch photographierte rechte Seite des selben Individuums. In den Wimperreihen sind sämtliche Cilien erhalten. Sie sind immer zu je 2 in 1 Grübchen der Pellicula eingepflanzt. Die pulsierende Vakuole (p) im Augenblick ihrer Entleerung nach außen. Vergr. 1075  $\times$ .

Fig. 6. *Distigma proteus* EHRLG., in metabolischer Bewegung durch den Opalblau-Phloxinrhodamin-Ausstrich fixiert. Die bei dieser Art sehr hinfälligen beiden Geißeln (eine Haupt- und eine viel kleinere, ebenfalls nach vorn gerichtete Nebengeißel) wohl erhalten. Schönes Hervortreten der Pelliculastreifung. Vergr. 620  $\times$ .

Nachdruck verboten.  
Übersetzungsrecht vorbehalten.

## Besprechungen.

Chodat, R., Sur une *Glaucocystis* et sa position systematique. Bull. de la Sociétés Botanique de Genève 2. ser. T. 11 1919 p. 42—50.

Die Fälle, in denen bisher in ihrer systematischen Stellung sehr unsichere celluläre Organismen — meist einzellige Algen — als dauernd unbeweglich gewordene Flagellaten erkannt werden, mehren sich zusehends. CHODAT erweist dasselbe auch bei einer höchst merkwürdigen Alge, die tiefblau, eine regelmäßige Bewohnerin leicht sumpfiger Gewässer ist, und die mannigfach umgestellt wurde, lange als Blualge galt, bis HIERONYMUS den Kern aufwies, dann als Rotalge ging und auch als Grünalge angesehen wurde. CHODAT weist nun bei einer Form nach, daß es sich bei ihr weder um eine Grün-, Blau- oder Rotalge handle, sondern daß vielmehr hier eine unbeweglich gewordene Dinoflagellate vorliege. Die tiefspanblaue Färbung bildet kein Hindernis für dies Ergebnis, denn auch einige bewegliche Dinoflagellaten haben eine solche Farbe, z. B. *Gymnodinium aeruginosum* u. a. Chromatophorenbau, Membranbau und Zusammensetzung, der Protoplast und Kern sprechen bei der von CHODAT studierten Form eindeutig für die Zugehörigkeit zu den Peridineen. Bereits KLEBS hatte seinerzeit solche unbewegliche celluläre Dinoflagellaten beschrieben: *Cystodinium*, *Tetradinium*, *Stylodinium*, *Phytodinium*. Auch eine mehr fadenförmige, mehrzellige Form (*Dinothrix*) ist bekannt geworden. Die Alge ist nun bei den Phytodiniaceen einzustellen und soll nach CHODAT eine eigene Familie der Glaucocystaceen bilden. Nach der Systematik, die Ref. seinerzeit über die ganze Gruppe der Dinoflagellaten und ihrer Deszendenten entwarf, gehört sie in die Reihe der Dinococcalen.

Ref. möchte hier einen Irrtum CHODAT's aufklären. CHODAT folgert aus dem Umstand, daß in der Süßwasserflora Deutschlands usw. *Glaucocystis* sub *linea* bei den Oocystaceen behandelt wurde, daß der Ref. sie für eine Protococcale, also für eine Grünalge hält; wohl war aber der Bearbeiter der Protococcalen geneigt, *Glaucocystis* als Protococcale anzusprechen. *Glaucocystis* wurde deshalb über Wunsch des Ref. als Her-



ausgeber dieser Flora hier sub linea eingestellt, weil sowohl der Rhodophyceen- wie auch der Schizophyceenbearbeiter die Aufnahme von *Glauco-cystis* ablehnte und deshalb die Gefahr bestand, daß *Glauco-cystis* bei ihrer unsicheren Stellung durch die einmütige Abweisung der Mitarbeiter schließlich als eine der häufigeren Algen unseres Gebietes überhaupt keine Stelle in der Süßwasserfauna gefunden hätte. Daß aber der Ref. *Glauco-cystis* damit nicht für eine Grünalge hielt, geht daraus hervor, daß er sie bei dem allgemeinen Bestimmungsschlüssel der nicht Faden bildenden Grünalgen, der den betreffenden Band der Süßwasserflora einleitet, nicht berücksichtigt.

In der CHODAT'schen Arbeit hat sich wieder der scharfe Blick des Verfassers für solche kritische Formen bewährt. A. PASCHER.

**W. Conrad:** Contributions à l'étude des Chrysomonadines. Bulletin de la class. d. scienc. d. acad. royale d. Belgique. 1920. 167—189.

Aus dieser Arbeit, die im 1. Teile viele wertvolle Beiträge zur Kenntnis der Synura uvella bringt, sei hier vor allem der Nachweis einer neuen von Chrysomonaden sich ableitenden cellulären braunen Alge erwähnt. Diese Alge *Thallochrysis* bildet kleine unregelmäßig, sich verzweigende Zellaggregate, die nach allen drei Richtungen des Raumes sich entwickelnd, frei flottieren. Jede Zelle hat einen großen wandständigen Chromatophoren, Leukosin und Öltropfen und eine derbe Membran. Die Zellen teilen sich in diesem unbeweglichen Zustande. Gelegentlich aber werden große Schwärmer gebildet, die eingeißelig einer Chromalina sehr gleichen. Sie kommen zur Ruhe, umgeben sich mit einer Membran und bilden dann eine kleine kugelige Zelle, durch deren weitere Teilung wieder fädig flächige Gebilde zustande kommen. Damit ist wieder ein neuerlicher Beweis erbracht, daß auch die anderen Flagellaten, nicht nur die Volvocalen zu „Algen“ in ihrer Entwicklung vorgeschritten sind. Wir kennen von solchen mit den Chrysomonaden in Zusammenhang stehenden braunen Algen außer den im vorstehenden Referate über die REVERDIN'schen Arbeit erwähnten einzelligen, sicherlich nun auch zwei mehr fadenförmige Formen: *Thallochrysis* CONRAD und *Nematochrysis* PASCHER (= *Chrysothrix* PASCHER). A. PASCHER.

**W. Conrad:** Sur un flagellé nouveau à trichocystes *Reckertia sagittifera*. Bulletin in de l'Acad. Roy. Belg. Class. des sciences 1920 No. 11 S. 544—553 mit 4 Textfiguren.

Durch die Beschreibung dieser neuen Monade wird unsere Kenntnis der Hochdifferenzierten nur in wenigen Gliedern bekannten Reihe der Chloromonadinen (bis jetzt nur *Vacuolaria*, *Trentonia*, *Gonyostomum*, *Mero-tricha*, *Thaumatomastix* bekannt) erweitert. Es ist eine farblose, der *Thaumatomastix* LAUTERBORN sehr nahestehende Flagellate, abgeflacht, mit konvexer Rückenseite und längsrinniger Bauchseite; zwei Geißeln, die eine kürzere nach vorn, die andere längere in der Bauchrinne als Schleppgeißel nach rückwärts gerichtet, fast zentralem Kerne, vorderem Vakuolensystem, das aus 2 kontraktilen Vakuolen besteht, die sich in eine Sammelblase ergießen. Ventralwärts werden zahlreiche, unverzweigte, ziemlich lange

Pseudopodien gebildet, die neben der Geißellokomotion ebenfalls Ortsveränderung ermöglichen. Ernährung saprophytisch und animalisch.

Der Kern ist sehr groß, bereits im lebenden Zustande sichtbar, kugelig. Nach Färbung erweist er sich als „Bläschen“kern mit großem homogenem Nucleolus, umgeben vom Außenkerne, in dem netzige Struktur reich an chromophilen Elementen zu sehen ist. Die Teilung erfolgt karyokinetisch.

Bemerkenswert sind die Beobachtungen CONRAD's über die Struktur der Ectoplasma: es ist eine zarte Cuticula vorhanden, darunter eine hyaline Schicht ohne jede Struktur und darauffolgend eine alveoläre Schicht, die deutlich radiär gestreift ist. Diese Streifung wird hervorgerufen durch zahlreiche, radiär eingelagerte Trichocysten. Sie erscheinen als kleine stäbchenartige  $1-1\frac{1}{2}\mu$  lange Körperchen. Bei Zusatz von Alkohol kommt es nicht zur Ausschleuderung. Bei Anwendung von Chloralhydrat bleiben nach der Desorganisation des Plasmakörpers die nicht ausgeschleuderten Trichocysten übrig und färben sich mit Safranin rot. Rutheniumrot (das SCHERFFEL hierfür bei Flagellaten erstmals verwendete) färbt die Trichocysten bereits in Protoplasten. Werden die Monaden in einer sehr verdünnten Methylenblaulösung (1:50 000—100 000) gezogen, so färben sich die Trichocysten bereits in vivo blauschwarz und sind in allen Stadien zu sehen, völlig im Ectoplasma liegend, gerade austretend und schon ausgetreten und in Form langer Fächer ausgeschleudert an der Zelle hängend. CONRAD spricht die Trichocysten bei *Reckertia* als Vakuolen an, die mit einer halbflüssigen, leicht fadenziehenden, klebrigen Masse erfüllt sind. Bei Einwirkung irgendeines physikalischen oder chemischen Agens zieht sich die Vakuole zusammen und preßt den Inhalt durch eine feine Pore des Ectoplasma fadenförmig heraus. In Berührung mit Wasser, nimmt der Faden dann Wasser auf und quillt auf. Diese visköse Flüssigkeit ist allem Anschein nach gemäß ihres färberischen Verhaltens Pektoseschleim. CONRAD's Angaben decken sich demnach im allgemeinen mit denen, die SCHERFFEL seinerzeit über die Trichocysten-artigen Gebilde bei *Monomastix* machen konnte. Über die Ontogenese der Trichocysten konnte CONRAD keine genauen Angaben machen.

Soweit Referent an einem wie *Reckertia* zu den Chloromonaden gehörigen *Gonyostomum* gehen konnte, liegen auch hier gleiche Verhältnisse vor. Er möchte aber keine vorgebildeten Poren im Ectoplasma annehmen; es schien als ob die Trichocysten die Ectoplasmaschicht einfach durchrissen. Es war manchmal deutlich zu sehen, wie die „Trichocysten“ die darüber liegende Ectoplasmaschicht nach außen vorwölbten, worauf plötzlich nach Überwindung der Spannung der Inhalt in Form eines Fadens austrat. Ist die Differenzierung und Autonomisierung der Hautschicht nicht allzuweit vorgeschritten, so läßt sich leicht verstehen, daß es jeweils wieder zum völligen Ineinanderfließen der Lochränder der Hautschicht kommen kann.

Jedenfalls scheinen die Trichocysten der Flagellaten<sup>1)</sup>, von denen der Ciliaten weit abzustehen und die Ableitung dieser von jenen ist noch recht lückenhaft.

A. PASCHER.

<sup>1)</sup> Ref. meint auch, daß die „Borsten“ von *Thaumatomastix* LAUTERBORN, die allseitig auf der Hautschicht abstehen, nichts anderes sind als ausgetretene Tricho-

**L. Reverdin:** Etude phytoplanktonique, expérimentale et descriptive des eaux du lac de Genève. Arch. d. scienc. phys. et nat. 1919. I. Genf.

Aus dieser Arbeit seien hier die Ergebnisse über die Flagellaten des Genfer Sees hervorgehoben. Der bemerkenswerteste Fund ist eine celluläre Chrysonomade, *Diceras Chodati* REV. nov. gen. nov. spec., eine eiförmige Zelle mit großen Chromatophoren und bei zwei polaren feinen Fortsätzen, von denen die eine schief zur Längsachse steht. Bei der Vermehrung teilt sich der Protoplast, ohne daß herausgebracht wurde, ob die Bildung von Schwärmen stattfindet. — Eine andere celluläre Chrysonomade ist *Styloceras*, ähnlich wie *Diceras* nur mit längs axialen Hörnern, beide Formen ausgesprochene Planktonorganismen. Über die anderen neuen Flagellatenformen soll in der Übersicht über neuen Protozoenarten und Gattungen berichtet werden. Die zweite der erwähnten beiden Formen von Chrysonomaden sind deshalb von Bedeutung, da sie zeigt, daß nicht nur bei den Volvocalen es zur Bildung cellulärer unbeweglicher Formen (Protococcalen) gekommen ist, sondern daß auch die anderen Flagellatenreihen solche Formen ausbilden, oder anders gesagt, daß alle Flagellatenreihen eine gleichsinnige Parallelentwicklung zu cellulären Algen mitgemacht haben. Entsprechend der Systematik der Chrysonomaden gehört die von REVERDIN beschriebene celluläre Chrysonomade nicht wie er meint zu den Lepochromonadinen, sondern mit *Chrysosphaera* und anderen zusammen zu den Chrysosphaerales spez. zu den Chrysosphaeraceen, die den Protococcales unter den Chlorophyceen entsprechen. A. PASCHER.

**Hellmut Simons:** Eine saprophytische Oscillarie im Darm des Meerschweinchens. Centralbl. für Bakteriologie 1920, 50, 356—368.

SIMONS fand im Blinddarm des Meerschweinchens — an über 80 Proz. — einen 3,4—4,5 dicken fadenförmigen, aus scheibchenförmigen Zellen zusammengesetzten Organismus, der an beiden Enden mit Kappenzellen schloß. Die Wandbildung erfolgt bei der Zellteilung irisblendenartig; durch funktionslos gewordenen Konkavzellen werden Hormogonien gebildet. Eine deutliche Schleimhülle konnte durch verschiedene Färbungsmethoden nachgewiesen werden. Der Organismus war farblos. Der Beschreibung nach liegt aller Wahrscheinlichkeit eine Oscillatoriacee vor. Der Organismus zeigt Vorwärtsgleiten mit Längsrotation. Er findet sich vorherrschend im Blinddarm; über die Art der Infektion gibt es nur Vermutungen. Auffallend ist der Umstand, daß diese *Oscillaria* im Gegensatz zum Vorkommen der anderen Formen in alkalischen Medien in einem ausgesprochen saurem vorkommt. Die Reaktionen auf Cellulose und Chitin waren begreiflicherweise bei einer Schizophyce negativ. Im Darminhalte erwies sich nur dieser Organismus im Vereine mit 2 anderen als ausgesprochen jodophil, während andere pflanzliche Substanzen des Darmes eine solche Reaktion nicht geben, da ihr Amylodextrin wahrscheinlich bereits vorher in verschiedener Weise abgebaut ist.

cysten; bei der weitgehenden Übereinstimmung zwischen *Thaumatostix* und *Reckertia* und beim Wegfall dieses Unterschiedes zwischen beiden Gattungen, ergibt sich eine ganz enge Verwandtschaft beider.

SIMONS bestätigt hier wieder einen sehr merkwürdigen Endosaprophytismus einer Oscillarie, der noch weiter verfolgt zu werden verdiente. Ref. darf aber vielleicht auch hier auf das ganz analoge Vorkommen farbloser Oscillariaceen in Rotatorien und Cladoceren hinweisen: er fand wiederholt Leichen dieser Tiere völlig angepfropft mit farblosen Schizophyceen, ja auch manchmal gleiche in lebenden Tieren. Bemerkenswert ist auch die Tatsache, daß fast farblose bis ganz hyaline Schizophyceen im Schleime verschiedener Blau-, Rot- und Grünalgen, wie auch in den Gallertlagern gewisser Pilze vorkommen und gerade hier in diesen leider noch nicht genau studierten Vorkommnissen scheint mir die endgültige Verbindung zwischen der hochinteressanten *Oscillaria caviae* SIMONS zu liegen und jenen autotrophen Blaualgen, die durch Zusatz organischer Substanz in ihrem Wachstum gefördert werden und dabei endophytisch in Pflanzen leben. Ref. möchte aber nicht dem Autor folgen, in dieser endozoischen farblosen Oscillarie eine Stütze für die Abstammungstheorie der Spirochaeten von Oscillarien oder Verwandten zu sehen. Wir sind gerade über die Morphologie einzelner spirulinoiden Cyanophyceen noch recht wenig unterrichtet und bei den hier in Betracht kommenden einfachen körperlichen Ausbildungsweisen spielen Konvergenzen eine große Rolle. Und was die Ableitung der Spirochaeten von Oscillarien betrifft, so liefen die Nachweise bis jetzt fast nur auf Parallelausbildung hinaus (*Arthrospira*, *Spirulina*, *Glaucospira*).

Eine genaue Prüfung der bekannt gewordenen morphologischen Verhältnisse der untersuchten Verhältnisse spricht bisher eher gegen eine solche Verbindung zwischen Spirochaeten und Oscillarien und läßt uns das Fehlen eines morphologischen Verbindungsgliedes erst recht empfinden. Die Konstatierung einer heterotrophen endozoischen Oscillarie allein aber beweist zunächst nur, daß auch die Oscillarien eine Entwicklung von autotrophen zur heterotrophen Form in einzelnen Gliedern durchgemacht haben. Es läßt sich bei ihnen eine Reihe finden, die mit mehr minder autotrophen beginnend über die vorher erwähnten in Gallerten und Schleimen lebenden und den in verschiedenen Rotatorien und Krustern vorkommenden farblosen Formen, zu der von SIMONS beschriebenen endozoisch-saprophytischen *Oscillaria caviae* führt, die den vorgeschrittensten und spezialisiertesten Zustand darstellt. Eine Frage für sich ist es, inwieweit der von SIMONS beschriebene Organismus identisch oder verwandt ist mit der von CHATTON schon 1913 beschriebenen und abgebildeten *Oscillospira*, die ebenfalls im Coecum lebt, endosporenartige Cysten hat. In einem kommenden Referate sollen die Angaben beider Forscher verglichen werden. A. PASCHER.

**K. Boresch:** Ein neuer die Cyanophyceenfarbe bestimmender Faktor.

Ber. d. deutsch. bot. Ges. 38 (1920), 286.

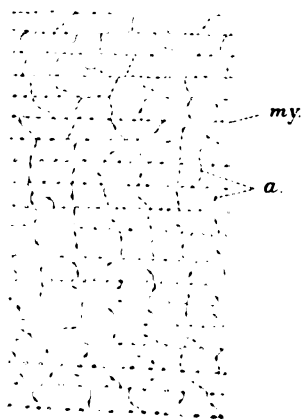
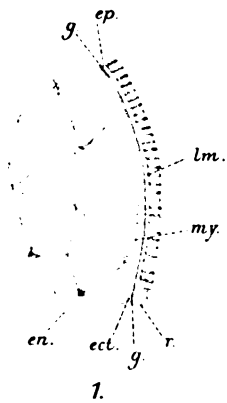
— Ein Fall von Eisenchlorose bei Cyanophyceen. Zeitschr. f. Bot. 13 (1921), 65.

Unter den die Cyanophyceenfarbe bestimmenden Außenfaktoren hat Verf. neuerdings als solchen auch den Eisengehalt des Nährsubstrates für ein *Phormidium* erkannt, nachdem er schon früher die Abhängigkeit der Lagerfärbung dieser Algen von der Menge des im Nährmedium vorhan-

denen Stickstoffs nachgewiesen hatte. *Phormidium Retzii* GOM., var. *nigro-violacea* WILLE n. v., welches in jungen Kulturen eine olivgrüne bis olivbraune Lagerfarbe besitzt, nimmt bei Erschöpfung des verfügbaren Eisens violette, braunrote, rotbraune, auch gelbbraune Färbungen an. Zusatz eines Eisensalzes stellt die ursprüngliche Farbe wieder her, aber nur dann, wenn noch verwendbarer Stickstoff vorhanden ist. Dieser Farbenwechsel beruht auf einer Zerstörung des Chlorophylls und der wasserlöslichen Pigmente bei eintretendem Eisenmangel. Man findet um so weniger von diesen Farbstoffen, je mehr sich die Rasenfarbe von Violett über Rot dem Gelbbraun nähert. In Hinblick auf ganz ähnliche Verhältnisse bei höheren Pflanzen wird diese zum erstenmal auch bei Algen beobachtete Erscheinung als Eisenchlorose bezeichnet. Wie bei der N-Chlorose vollzieht sich auch hier der Abbau des Chlorophylls und der wasserlöslichen Farbstoffe gleichzeitig, nur bestimmen die letzteren im Verein mit den sich nicht vermindernden Karotenen noch längere Zeit die Färbung des Rasens. Bei gleicher Menge des in Form von  $\text{KNO}_3$  dargebotenen Stickstoffs hängt der Grad des Abbaues dieser Farbstoffe von der gleichzeitig vorhandenen  $\text{FeSO}_4$ -Menge ab. Autoreferat.

---





2.

6.

7.



5.

8.

9.



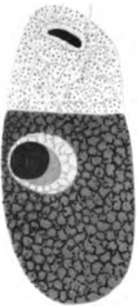
11.



12.



10.



13.



14.



15.



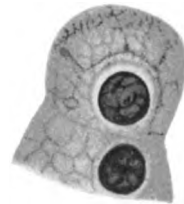
16.



17.



18.



19.









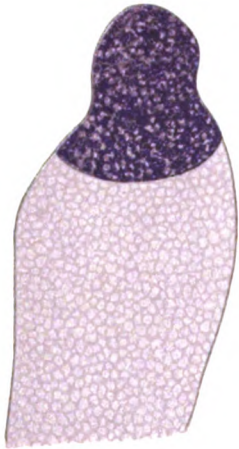
20.



21.



24.



22.



23.



25.



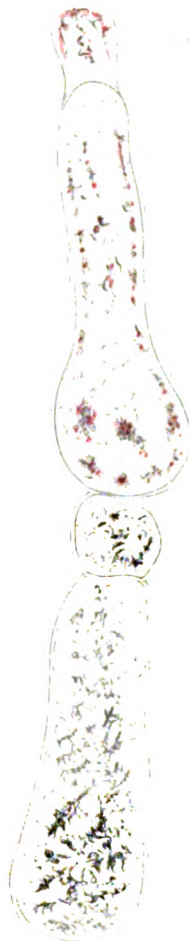
26.



27.



28.



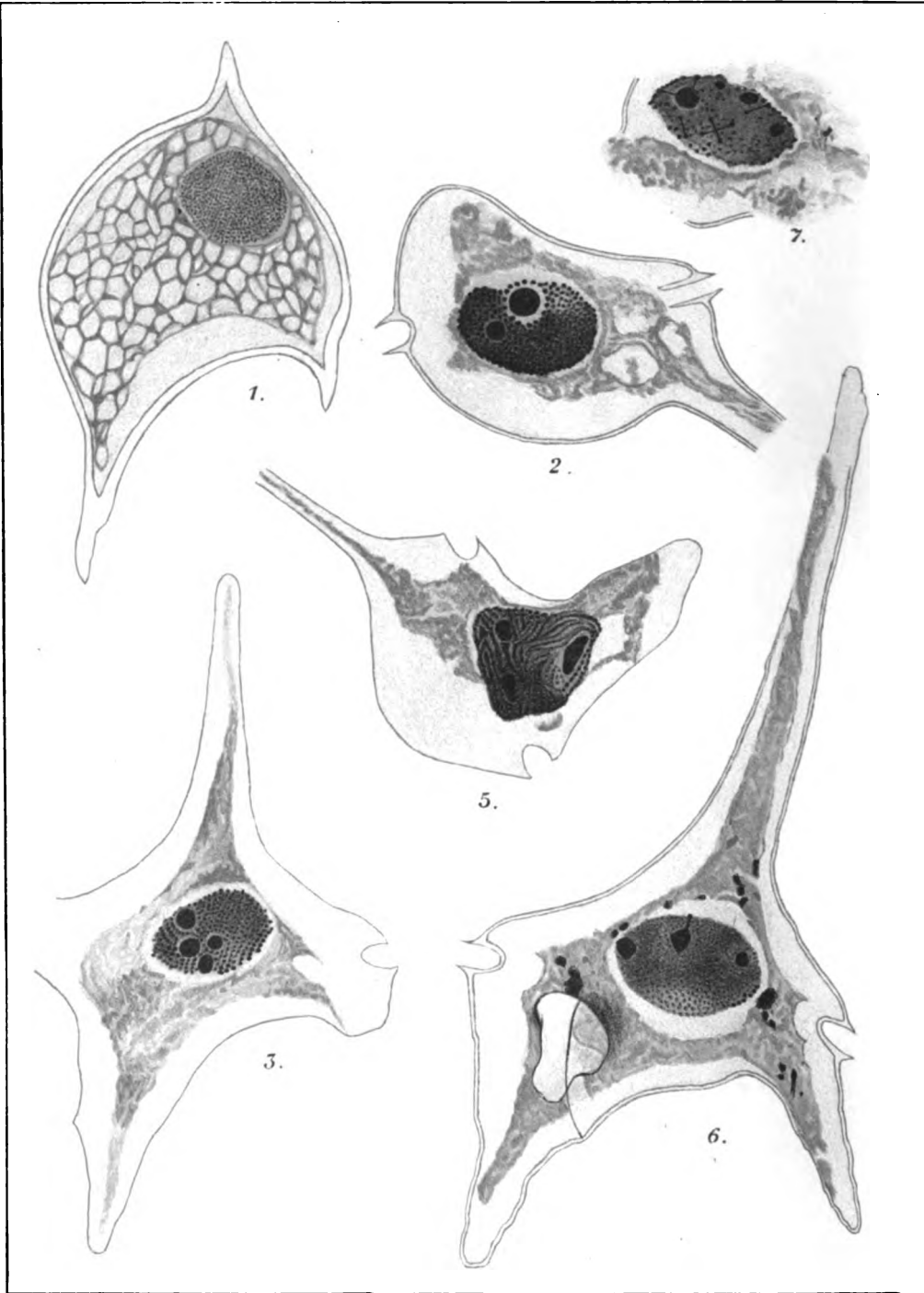
29.



30.

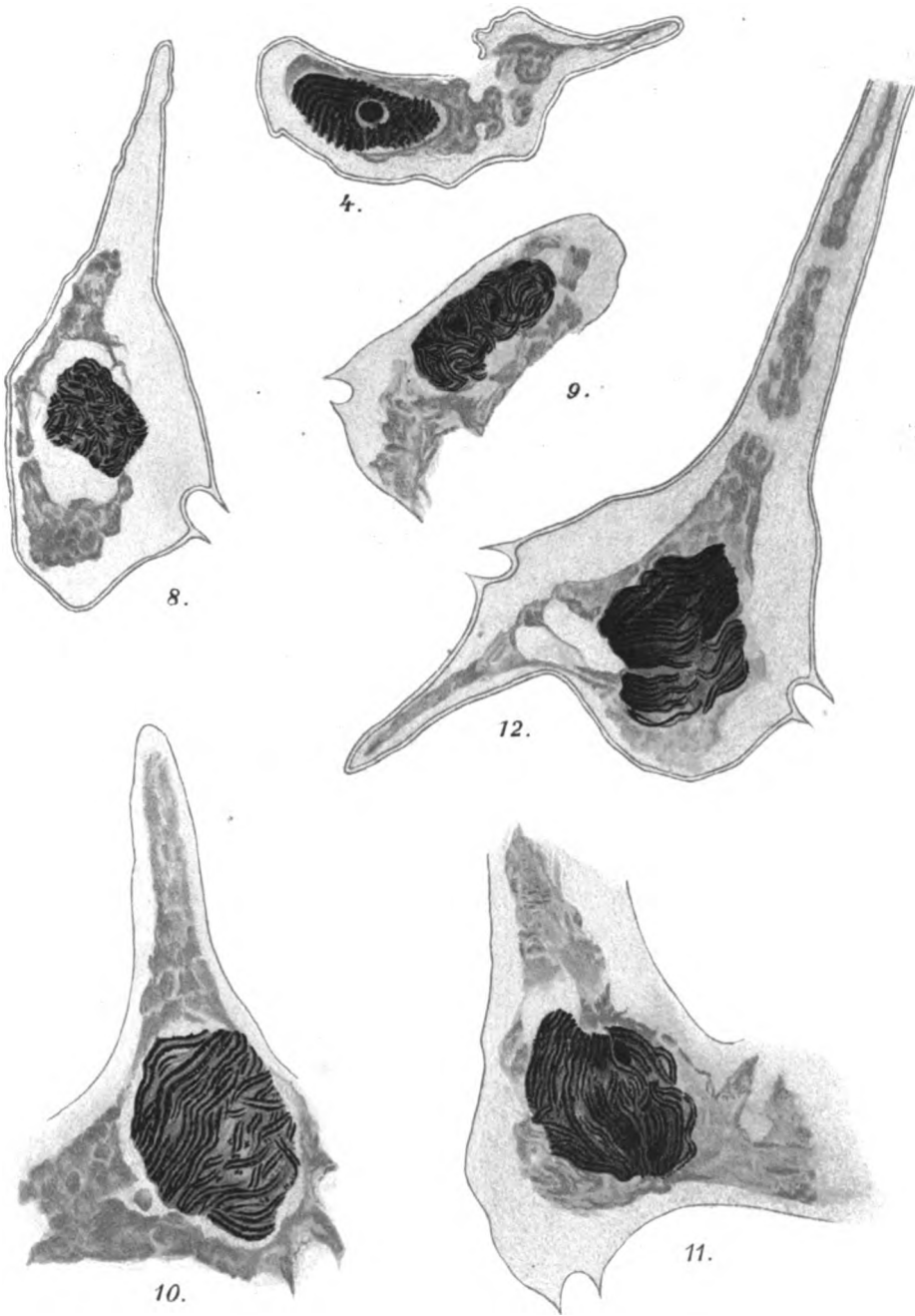






Géza Entz jr.

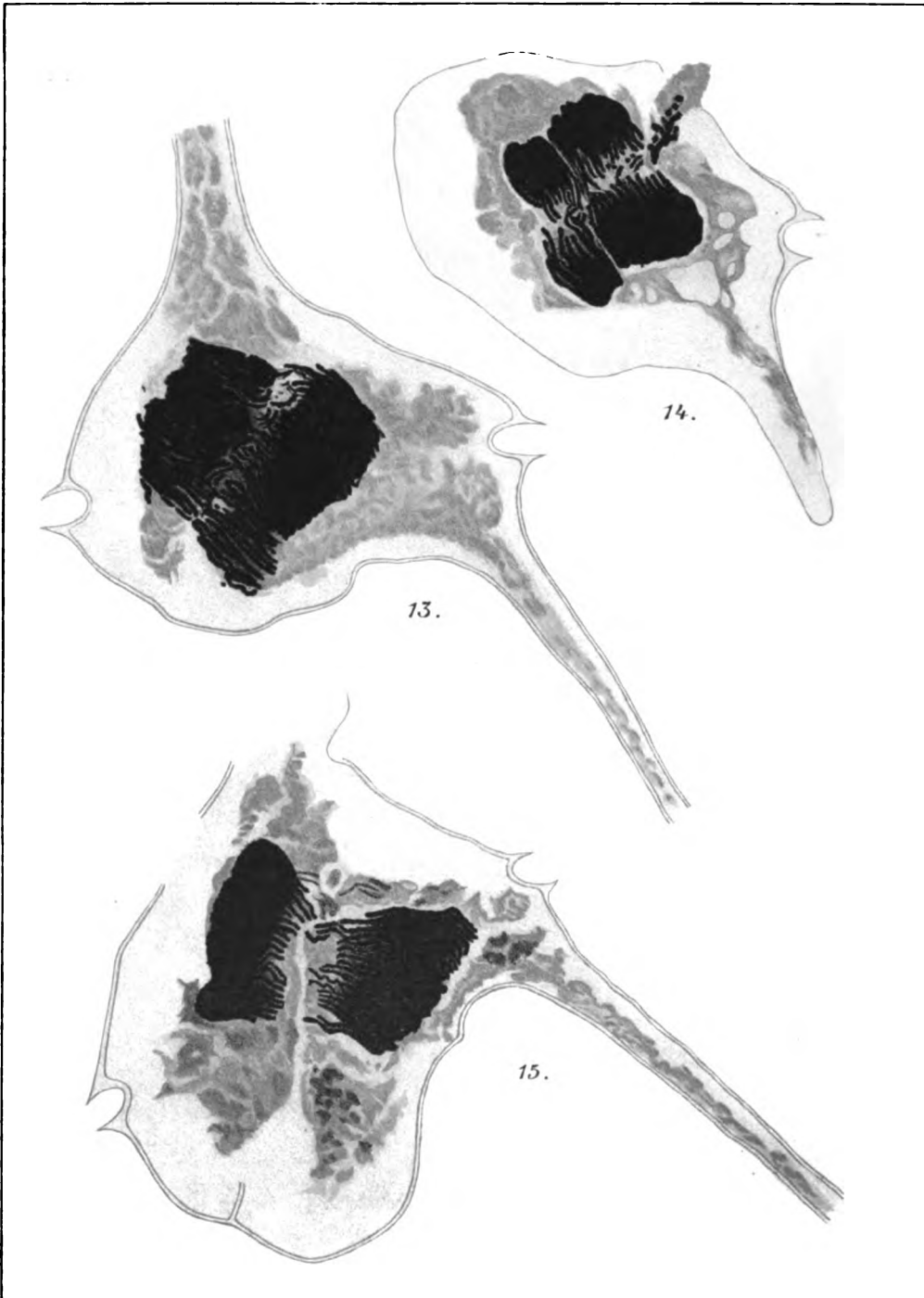
Verlag von Gustav

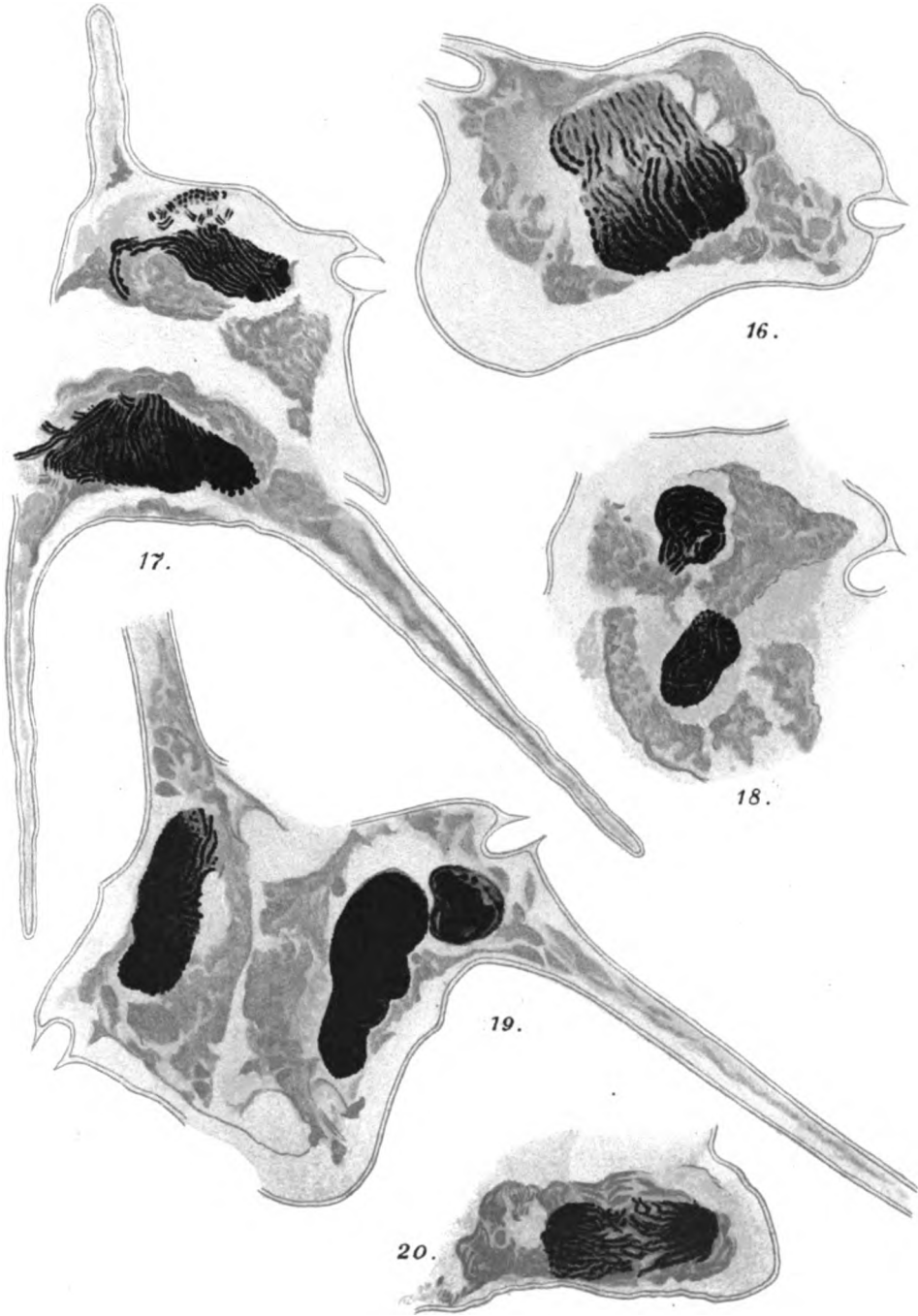






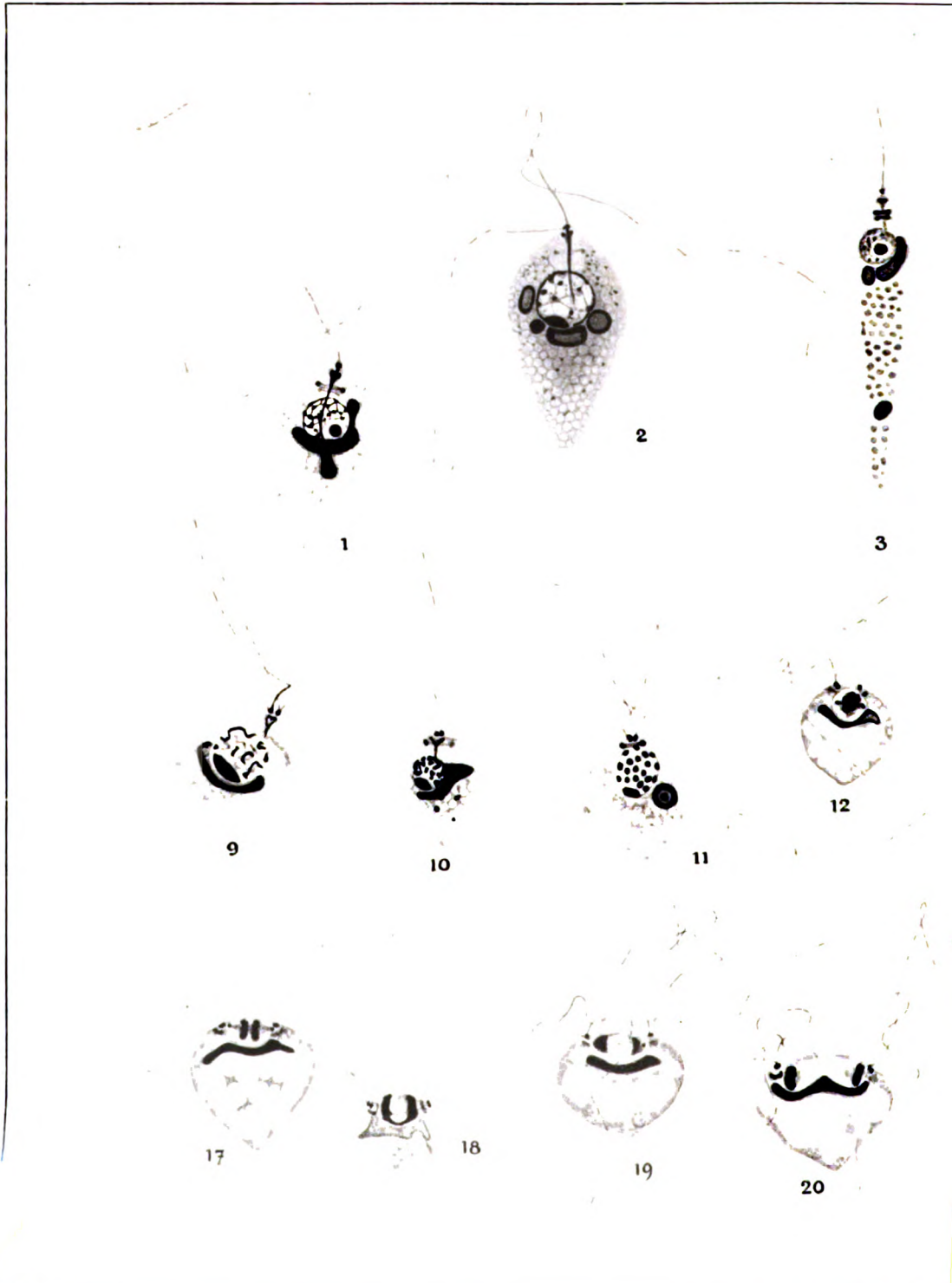








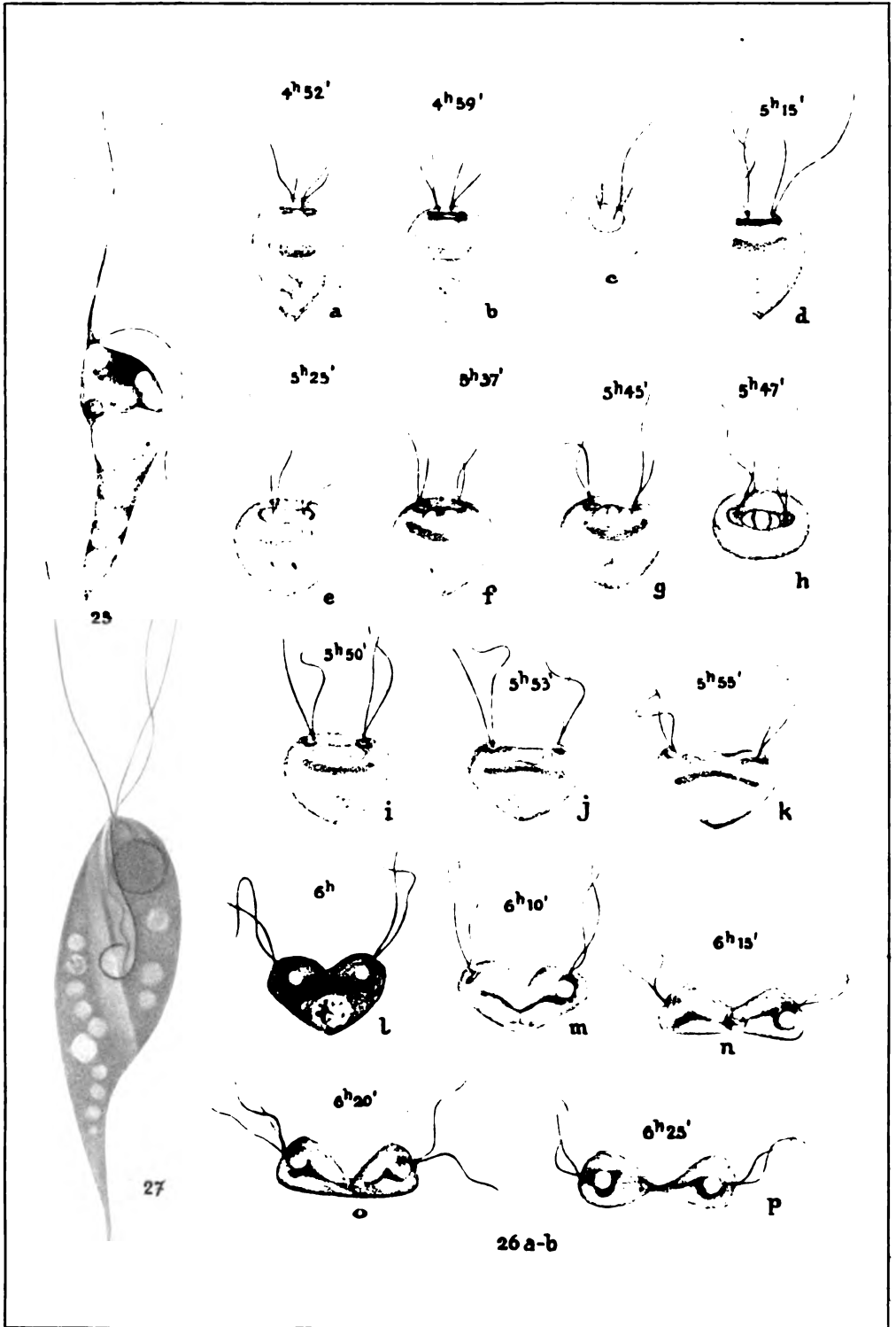








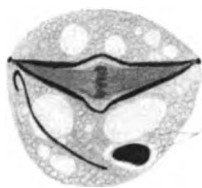




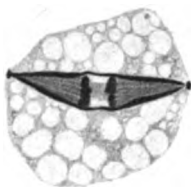








37



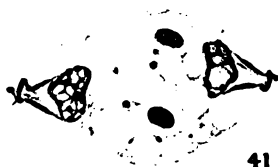
38



39



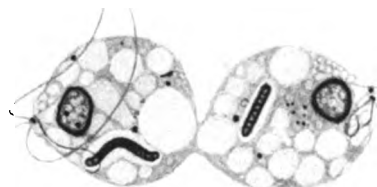
40



41



42



43

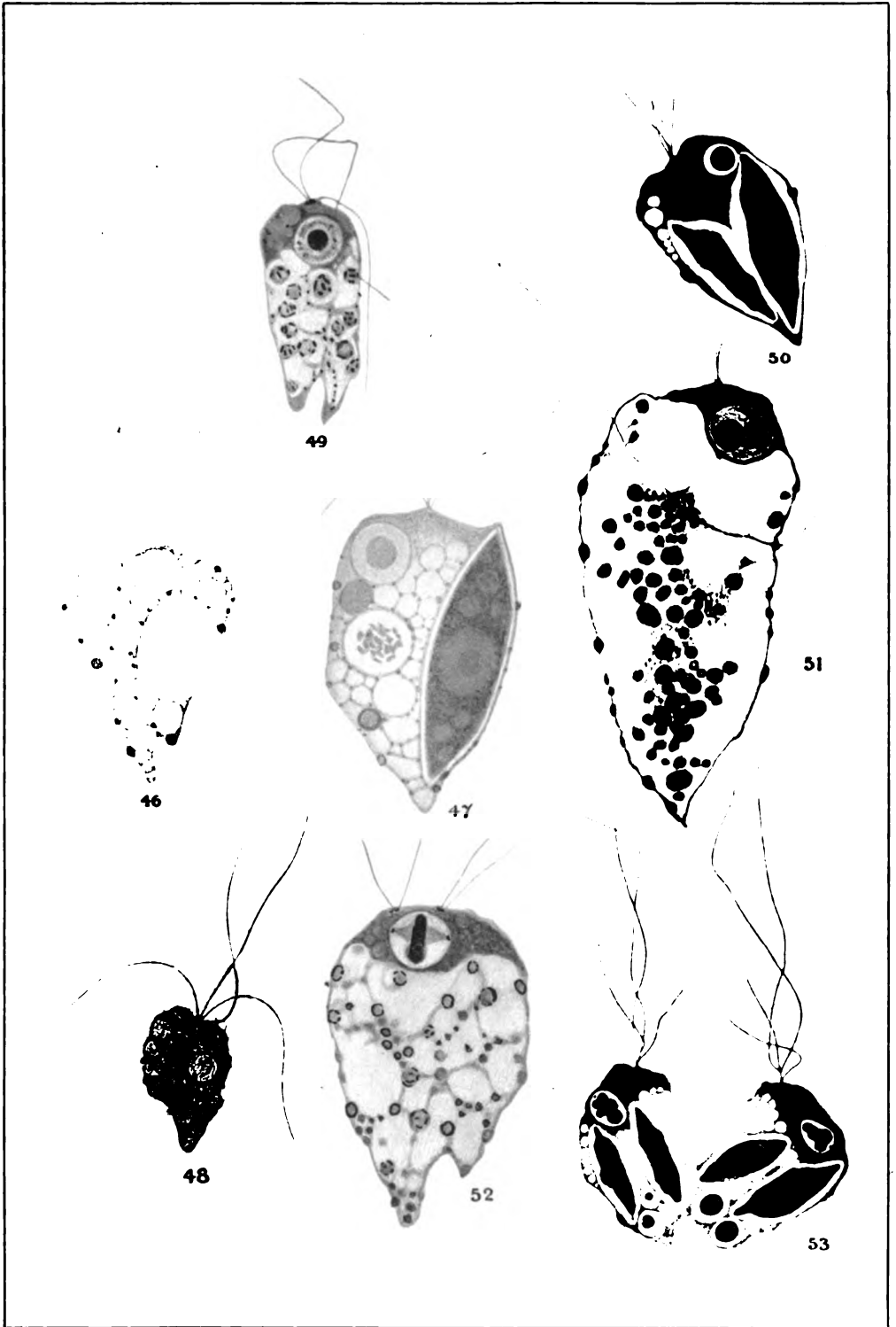


45



44

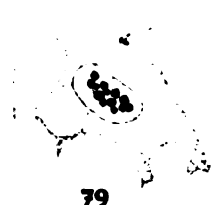
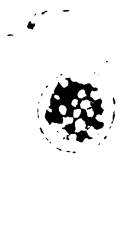
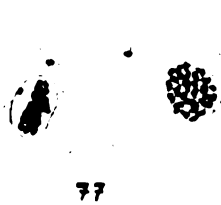
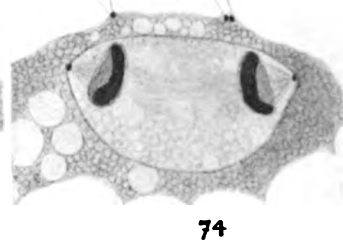
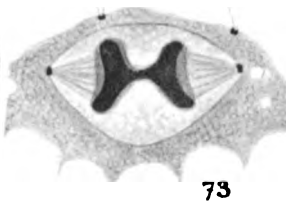
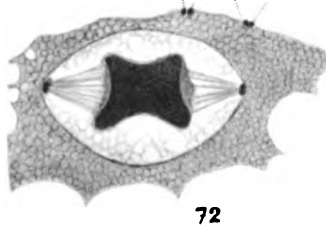
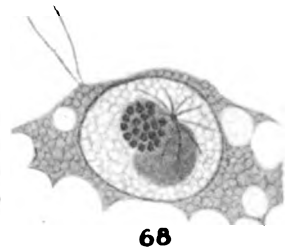
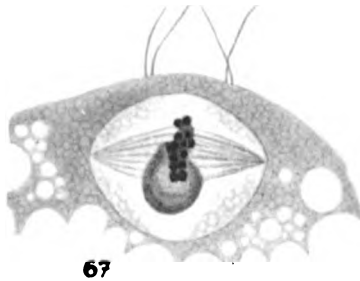
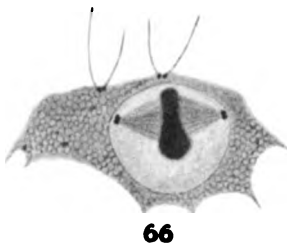
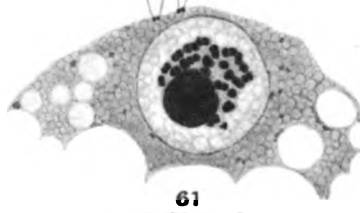
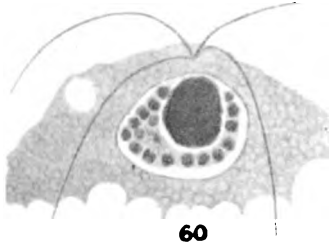
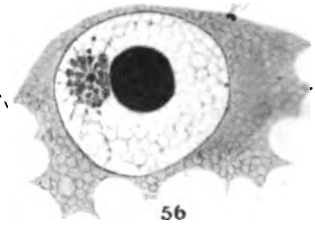
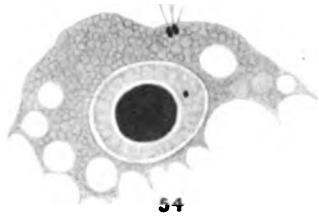


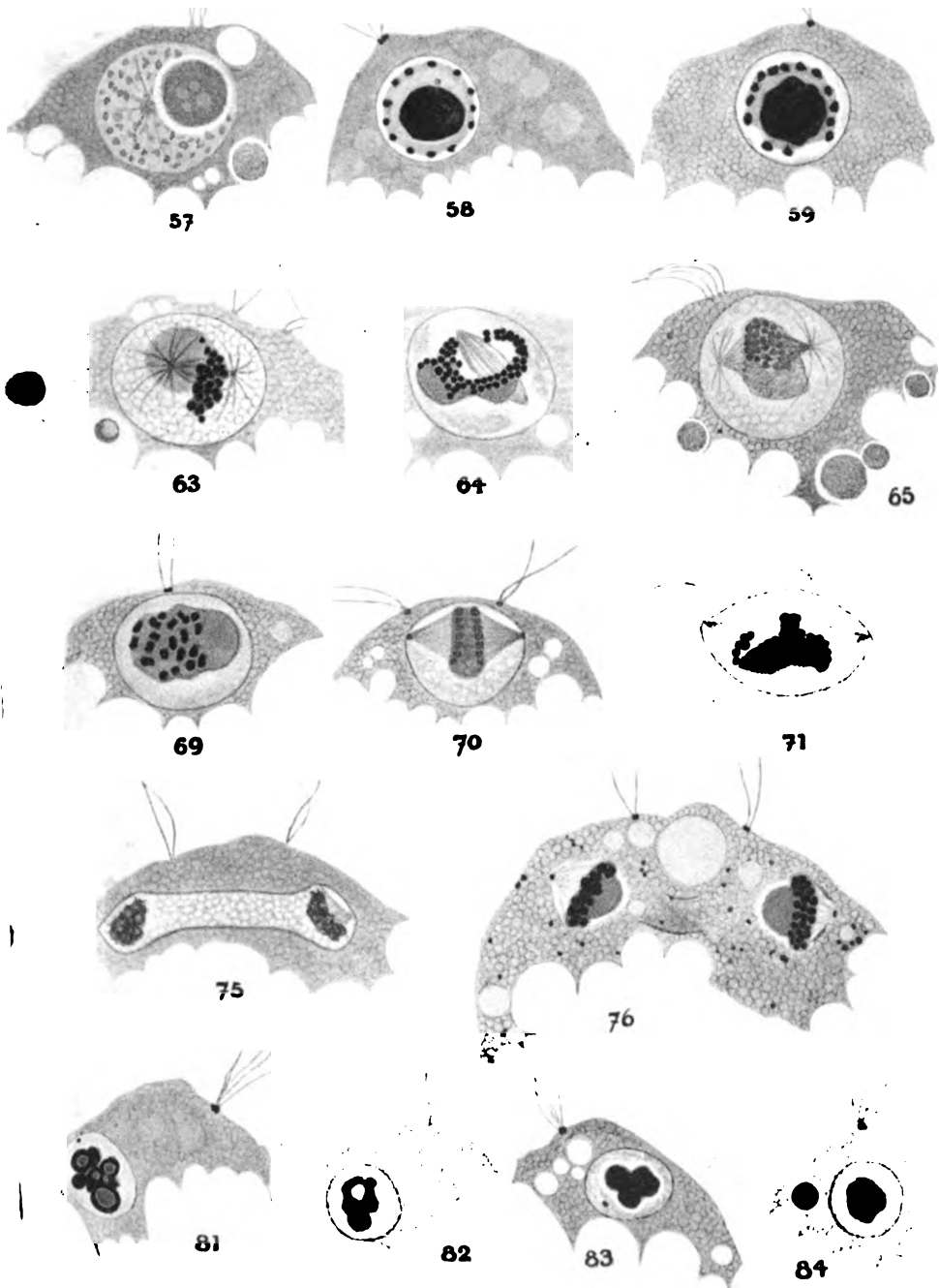




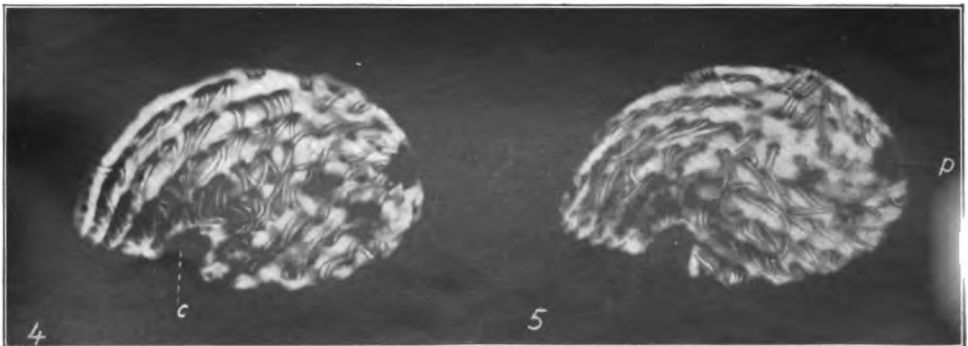
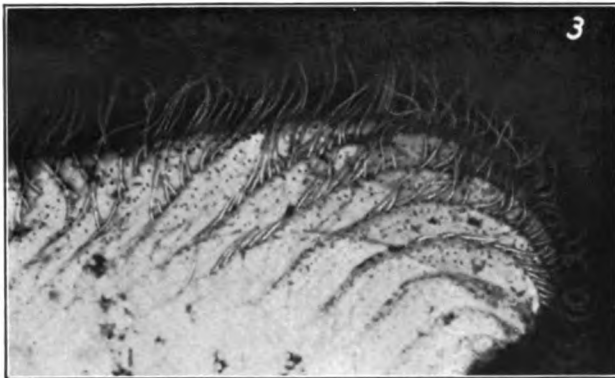












Handwritten scribble or signature











