

*Nachdruck verboten.
Übersetzungsrecht vorbehalten.*

(Aus dem Laboratorium der niedrigen Temperaturen des Instituts
für experimentelle Biologie zu Moskau.)

Über Ausfrieren und Überkältung der Protozoen.

Von
W. W. Efimoff.

Einleitung: Versuchszweck und Terminologie.
Versuchsmethoden und Material.

- I. a) Das Ausfrieren.
- b) Über den Druck des Eises.
- c) Bedeutung des Eises beim Ausfrieren.

- II. a) Überkältung.
- b) Das Angewöhnen an Überkältung.

Schlußfolgerungen. Zusammenfassung.

In seinen Arbeiten hat PICTET ¹⁾ eine ausführliche Beschreibung des Einflusses von Kälte auf die verschiedenartigsten Vertreter des Tierreiches geliefert von den Protozoen bis zum Hunde. Nach seinen Versuchen sind die Kältegrade, die die Tiere gut vertragen, sehr bedeutend. So vertragen Protozoen im Heuinfus eine Temperatur von -60° sehr gut. Nach dem von PICTET aufgestellten Gesetz verträgt das Tier um so größere Kälte, je weniger es differenziert ist, resp. je tiefer die Stufe ist, die es im Tierreiche einnimmt (so geht der Frosch bei -30° zugrunde, während der Hund schon bei $+18^{\circ}$ eingeht).

¹⁾ R. PICTET: La vie et les basses temperatures. Revue scient. 1893 Vol. 52.

Da soll bemerkt sein, daß bei Versuchen mit kleinen Tieren PICTET die Temperatur der abkühlenden Flüssigkeit gleich derjenigen des Versuchstieres annimmt. Aber die Versuche von CAMERON²⁾ und BRUNOW³⁾ zeigten, daß der Frosch schon bei -1°C zugrunde geht, während seine Muskeln erst durch die Temperatur $-4,2^{\circ}\text{C}$ getötet werden. Also wurde das Gesetz und die Zahlen von PICTET bestritten und es erforderte eine experimentelle Nachprüfung, umsomehr, da seine Angaben in manchen Lehrbüchern erschienen.

Aufgabe dieser Arbeit ist, experimentelle Forschungen über den Einfluß niedriger Temperaturen auf Protozoen vom Standpunkte der Colloidchemie.

Im folgenden wird die Bezeichnung „Abkühlung“ schlechtweg im Sinne einer Einwirkung von niedrigen Temperaturen jeder Art gebraucht; unter Bezeichnung „Ausfrieren“ wollen wir eine Abkühlung des Mediums verstehen, die mit Eisbildung verbunden ist; endlich unter „Überkältung“ (Unterkältung) wollen wir Temperaturen bezeichnen, die unter dem Gefrierpunkt des Mediums liegen und zwar ohne Eisbildung.

Da wir keine direkten Methoden zum Messen der Temperatur von Infusorien besitzen, so dürfen wir die t° des Mediums als die der letzten annehmen, umsomehr, da sie als mikroskopische Gebilde im Wasser von einer verhältnismäßig kolossalen Flüssigkeitsmenge umgeben sind, deren t° sich schnell den letzteren mitteilt.

I.

a) Ausfrieren.

Als Objekt wurden Infusorien gebraucht: *Paramecium caudatum*, *Stentor coeruleum*, *Dileptus anser*, *Colpidium colpoda*, *Stylonychia mytilus*, *Spirostomum ambiguum*. Als Hauptobjekt diente *Paramecium* im Heuinfus oder Teichwasser und als Kühlflüssigkeit diente ein Gemisch von Salz und Eis und speziell angeordnete Kühlschränke im Laboratorium für niedere Temperaturen.

Die t° konnte beliebig geändert, resp. die gleiche erhalten werden, solange die Kühlmaschine, die nach dem Prinzip der Gasausdehnung arbeitete, richtig arbeitete. Die Versuchsinfusorien befanden sich in einem Reagenzglas, das mit einem die Wände nicht berührenden Thermometer versehen war. Das Glas wurde in ein

²⁾ A. CAMERON: Further experim. on the effect of low temperatures on the frog. Transactions R. S. Canada. Manitoba 1915 serie III.

³⁾ H. BRUNOW: Der Kältetod des isolierten und durchbluteten Froschmuskels. Zeitschr. f. allgem. Physiologie 1911 Bd. 13.

Abkühlungsmedium gesteckt und die t^0 begann schnell zu sinken. Beim Gefrierpunkt blieb die t^0 so lange die gleiche, bis ziemlich Flüssigkeit sich in Eis verwandelte; dann sank sie wiederum schnell bis zum gewünschten Punkte.

Darauf wurde das Reagenzglas gehoben und durch verschiedene Mittel bald schnell bald allmählich abgetaut. Bei Überkältung wurde letztere durch einen Eiskristall aufgehoben.

Folgende Angaben weisen die Versuchsergebnisse auf.

Tabelle I.

T° d. Ausfrieren	Zustand der Infusorien nach d. Ausfrieren	T° d. Ausfrieren	Zustand der Infusorien nach d. Ausfrieren
— 10,0°	<i>Param. u. Colp. tot</i>	— 4,0°	<i>Paramacium</i> leben
— 6,2°	" " "	— 3,2°	
— 6,0°	" " "	— 2,5°	<i>Spirostomum tot</i>
— 5,0°	" " "	— 3,4°	<i>Param. tot; Colpid. leben</i>
— 4,5°	" " "	— 2,8°	<i>Paramacium tot</i>
— 4,0°	" " "	— 1,0°	<i>Param. leb. (30 min. Ausf.)</i>
— 3,0°	" " "	— 1,0°	<i>Param. tot (60 min. Ausfr.)</i>

Aus der Tabelle ersieht man, daß bei einer t^0 von unter — 4° die Infusorien zugrunde gehen, trotzdem sie sich dabei nicht über 30 Min. bestanden. Falls sie für 50—60 Min. in Eis gesteckt wurden, konnten sie schon — 1° oder — 2° nicht überleben. Die tödliche Temperatur für Infusorien liegt also ziemlich hoch.

Nehmen wir größere Mengen von Wasser mit *Paramacium* und anderen Infusorien und bringen sie in den Kühlschrank von einer t^0 z. B. — 15°, dann wird das Wasser langsam frieren; zuerst friert reines Wasser, die Salzlösung wird immer konzentrierter, ihr Gefrierpunkt sinkt fortwährend um so tiefer, je mehr reines Wasser in Eis sich verwandelt, so daß am Ende ein Kryohydrat entsteht. Derartige große Flüssigkeitsmengen müssen deshalb eine längere Zeit im Schrank aufbewahrt werden und außerdem ist es schwer festzustellen, wann das Wasser vollständig in Eis umgewandelt wird. Deshalb mußten die Versuche mit kleinen Flüssigkeitsmengen angestellt werden.

Die üblichen Protozoonkulturen — Heuaufgüsse enthalten sehr viel bakterielle Membranen (*Bacillus subtilis*). Von Interesse war, den Einfluß dieser Membranen auf das Einfrieren festzustellen. Dazu wurden Uhrgläser angewandt, die einen Infusorien mit Membranen, die anderen sorgfältig filtrierte Media enthaltend; dann wurden beide Gruppen zum Gefrieren und schnellen Abtauen gebracht.

Tabelle II.

Nr.	t°	Wasser mit Membranen von Bacill. subt.	Wasser ohne Membranen
1	— 2	<i>Paramaecium</i> alle leben	<i>Paramaecium</i> alle tot
2	— 2	"	"
3	— 3	"	"

Die bakteriellen Membranen erschweren also das Einfrieren von Wasser, da sie einander anliegend, kapillare Räume bilden, die zur Überkältung geeignet sind; in diesen Räumen finden die mikroskopischen Gebilde ihren Schutz.

Indem wir die obengenannten Vorsichtsmaßregeln anwandten und so 15 Tropfen filtrierte Wasser mit Infusorien zum Frieren brachten (einen Tropfen darf man nie nehmen, da die Infusorien einen derartig kleinen Raum mit ihren Ausscheidungen schnell füllen und dann durch Autointoxikation zugrunde gehen), wir konnten feststellen, daß nach langem Verweilen derselben in gefrorenem Wasser bei — 1—2°, sie nicht mehr am Leben waren.

b) Über den Druck des Eises.

Nach dem Abtauen findet man die Infusorien zusammengepreßt, viele von ihnen teilweise zerrissen. Daher entsteht die Frage: hängt dieser Zustand vom äußeren Druck des Eises oder vielmehr vom inneren Drucke der innerhalb der Infusorien einfrierenden Flüssigkeit ab?

Es ist allbekannt, daß Eis beim Einfrieren von Wasser Flaschen, sogar Bomben zum Sprengen bringt.⁴⁾

In offenen Gefäßen ist der Druck des sich bildenden Eises natürlich viel schwächer. Wir mußten bei unseren Versuchen den Druck des sich bildenden Eises auf die sich im Reagenzglas befindenden Gegenstände, spez. auf die Infusorien, aufs genaueste untersuchen. Die speziell ins einfrierende Wasser gebrachten zerbrechlichen Glasperlen und Kapseln blieben nach dem Auftauen vollkommen intakt. Wahrscheinlich war der Druck derart, daß er sie nicht zu ruinieren imstande war.

⁴⁾ H. BARNES: The crushing strength of ice. Trans. of the Royal Soc. of Canada ser. III 1914 Vol. 8.

H. BARNES and N. LEOD: The expansive force of ice. Ibid. 1914 ser. III Vol. 8 sect. III.

Dann wurde in das zum Einfrieren bestimmte Wasser ein Glasrohr gebracht, das am unteren Ende mit einem kleinen mit Glycerin gefüllten Gummiballon versehen war.

Beim Einfrieren drückte das Eis auf den Ballon und hob das Glycerin auf eine gewisse Höhe, die gemessen wurde; es ließ sich nachweisen, daß der Druck sehr gering ist. Am stärksten war der Druck bei -15° ; nämlich 62 mm. Eine Proportionalität zwischen t° und Niveau des Glycerins konnte nicht festgestellt werden. Von Bedeutung ist der Zustand und Bau des Eises.

Ist das Glycerin auf 6 cm in die Höhe gestiegen beim spezifischen Gewicht von 1,22; ist ferner der Atmosphärendruck gleich 76 cm Quecksilber, dessen spezifisches Gewicht = 13,6, so haben wir in Bruchteilen des Atmosphärendrucks einen Druck des Eises gleich:

$$\frac{1,22 \times 6}{13,6 \times 76} = 0,007.$$

Dabei ist freilich der Widerstand der feinen, nachgiebigen Gummimembran nicht mitberechnet. Jedenfalls ist der Druck des Eises im offenen Gefäß auf einen dort befindlichen Körper sehr klein im Vergleich zu demjenigen im geschlossenen Gefäß.

Wäre der Druck innerhalb des Gefäßes bedeutend, so würde das Glycerin ganz aus dem Gefäß nach außen getrieben, bzw. die *Paramaecium* würde zu Pulver zermalen.

c) Bedeutung des Eises beim Ausfrieren.

Wahrscheinlich spielt der eigentliche Druck des Eises keine entscheidende Rolle beim Untergehen der Infusorien und wir haben es bei letzteren mit den gleichen Prozessen zu tun, die von MOLISCH beim Ausfrieren von Amöben und Spirogyren beschrieben sind.

Der Gefrierpunkt des das *Paramaecium* umgebenden Wassers ist höher als derjenige der Zellflüssigkeit; daher, falls die Abkühlung nicht intensiv ist, bildet sich anfangs eine Eishülle um *Paramaecium*, alsdann beginnt das Wasser durch die Zellwand auszuwandern und schließt sich der umgebenden Eishülle an, so wird allmählich das Tier entwässert; eine derartige stark fortgeschrittene Entwässerung endet mit dem Tode der Infusorie, weil das Protoplasma beim Abtauen nicht mehr imstande ist, das abgegebene Wasser wiederum zu absorbieren.

Die klassischen Arbeiten von VAN BAMMELEN⁵⁾ stellen fest, daß

⁵⁾ RAKOWSKI: Zur Lehre von Absorptionsprozessen. 1913. Diss. Moskau (russisch).

die Entwässerungsprozesse der Colloide irreversibel sind, d. h. daß das bis zum gewissen Grade ausgetrocknete Protoplasma nicht mehr bis zum ehemaligen Zustande anquellen kann.

Andererseits führt FISCHER ⁶⁾ eine überzeugende Analogie durch zwischen toten und lebenden (organismischen nach RUMBLER ⁷⁾) Colloiden, welch letztere das Substrat der Lebensvorgänge darstellen, und klärt damit, vom Standpunkte der Colloidumwandlung, die Folgen des Ausfrierens für Organismen auf.

Sinkt die t^0 rasch, resp. friert das Wasser schnell ein, dann friert ebenfalls die Zellhülle ein (Membrancolloide nach LEPESCHKIN ⁸⁾) und es bilden sich in derselben Eiskristalle; indem letztere auf Kosten des Wassers, das in den Membrancolloiden vorhanden ist, sich vergrößern, trocknen letztere ein und da sie von den Eiskristallisationsstellen sich inzwischen entfernen, kehren sie beim Abtauen auf ihre Plätze nicht mehr zurück. Die derartig gebildeten Vakuolen, die im Grunde die selektive Durchgängigkeit der Zellmembran verändern, sind die eigentliche Ursache des Todes der Zelle.

Das Ausfrieren der Colloide ist von einer bedeutenden Zahl von Autoren studiert (BRUNI, ⁹⁾ LUBAWIN, ¹⁰⁾ LIESEGANG ¹¹⁾) und sie sind sich alle darin einig, daß die Colloide beim Abtauen nicht mehr den früheren Zustand erreichen.

Wir stellten unsere Versuche im Eisschrank mit 2 Proz. Gelatine an. Beim Einfrieren bei -15° bildeten sich in der Gelatine große Eiskristalle, zwischen denen sich Gelatine befand, die sich von den Eiskristallen entfernte. Beim Tauen bildete sich ein hübsches Netz auf Gelatine mit großen Waben, die im Wasser etwa 3 Tage lang intakt blieben.

Der Botaniker MAXIMOFF ¹²⁾ schreibt diesem Umstande eine

⁶⁾ H. FISCHER: Gefrieren und Erfrieren. Beiträge zur Biologie der Pflanzen Bd. 10 1910—11.

⁷⁾ L. RUMBLER: Methodik der Nachahmung von Lebensvorgängen durch physikalische Konstellationen. Handb. d. biol. Arbeitsmethod. Abt. V Teil 3 Heft 2.

⁸⁾ B. LEPESCHKIN: Zur Kenntnis der Plasmamembran. Ber. d. deutsch. bot. Ges. Bd. 28.

⁹⁾ BRUNS: Über das Ausfrieren von Gallerten. Ber. d. deutsch. chem. Ges. 1909 Bd. 1.

¹⁰⁾ LUBAWIN: Über das Ausfrieren der Colloide. Journal d. physiko-chem. Ges. Bd. 21 Abt. I (russisch).

¹¹⁾ R. LIESEGANG: Deformation von Gallerten durch Gefrieren. Kolloid-Zeitschrift 1912 Bd. 10.

¹²⁾ N. MAXIMOFF: Experimentelle und kritische Untersuchungen über Gefrieren und Erfrieren. Jahrb. f. wiss. Botanik Bd. 53, 1913—14.

entscheidende Rolle in der tödlichen Wirkung der Eishüllenbildung auf pflanzliche Zellen zu.

Natürlich kann dasselbe auch auf das Protoplasma der Protozoen bezogen werden.

Bei sehr starker Kälte, d. h. bei raschem Wärmeverlust der Zelle folgen rasch aufeinander oder entstehen gleichzeitig Bildung einer Eishülle um die Zelle, Einfrieren ihrer selektiven Membran und außerdem Einfrieren des Zellwassers, wobei dem Protoplasma von den Kristallen fortwährend Wasser entzogen wird, und die erwähnten Prozesse zum Vorschein kommen.

Daraus schließen wir, daß das Ausfrieren verderbend auf die Infusorien einwirkt und daß das *Paramaecium* in unseren Teichen in nicht eingefrorenem Zustande überwintern muß; in der Tat fanden GRESE und RUMJANZEW¹³⁾ diese Infusorien im Teich während des Winters.

II.

a) Überkältung.

Es ist bekannt, daß Wasser unter 0° C abgekühlt werden kann, ohne einzufrieren. Im feinen Kapillarrohr gelang es DEPPE Wasser ohne Eisbildung bis auf — 20° zu bringen. Diese Erscheinung wird „Überkältung“ genannt und wurde auch bei Tieren und Pflanzen beschrieben.

KODIS¹⁴⁾ behauptet, das Einfrieren wäre für lebende Organismen tödlich, während die Überkältung gut vertragen wird, auch bei hohen Graden derselben.

Letztere gestattet uns die direkte Einwirkung der Kälte zu studieren.

Um die Angaben von KODIS und BACHMETJEFF¹⁵⁾ zu prüfen, wurden folgende Versuche angestellt. Ins Reagensglas mit Heuaufluß, das zwecks der Entfernung von Luft ausgekocht wurde, wurde eine gewisse Menge zentrifugierter Infusorien nebst Thermometer gebracht; über das Wasser wurde eine Schicht Prowincöl aufgegossen, das Glas mit Watte umwickelt, in ein weiteres Glas eingesteckt und abgekühlt. Das Eintreten der Überkältung markierte

¹³⁾ Verhandlungen der Hydrobiologischen Station der Tiefteiche. 1910.

¹⁴⁾ T. KODIS: Die Unterkühlung der tierischen und pflanzlichen Gewebe. Centralbl. f. Physiol. Bd. 12, 1899.

¹⁵⁾ BACHMETJEFF: Die Temperatur der Insekten nach Beobachtungen in Bulgarien. Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. 66.

sich durch das fortwährende allmähliche Sinken der Temperatur unter 0° C. Nachdem die t° einen gewissen Grad erreichte z. B. -5° , stieg plötzlich das Thermometerquecksilber in die Höhe bis auf 0° . Sofort nach solchem Temperaturumschwung wurde die Flüssigkeit auf lebende Infusorien untersucht. Der t° -Fall von $+14^{\circ}$ bis unter 0° (Celsius) dauerte 20—50 Min. an, d. h. die Protozoen wurden zu ziemlich rascher Abkühlung gebracht. Die Resultate waren folgende.

Tabelle III.

t° Überkältung	Resultat
$-1,0^{\circ}$	<i>Paramaecium</i> und <i>Colpidium</i> leben
$-4,8^{\circ}$	" " " "
$-5,1^{\circ}$	" " " "
$-6,2^{\circ}$	" " " "
$-7,0^{\circ}$	" " " "
$-9,2^{\circ}$	50 Proz. sind tot

Die Überkältungstemperatur von $-9,2^{\circ}$ wurde nur einmal erreicht, andere Temperaturen mehrmals mit gleichem Erfolge, nämlich, daß schnelle kurzdauernde Überkältung für die Infusorien unschädlich war, wobei wir unter der Bezeichnung „lebend“ verstehen, daß die Infusorien auch am nächsten Tage noch lebten. Die t° $-9,2^{\circ}$ wirkt deformierend auf die Tiere; deshalb sind nur diejenigen Experimente mit dem Ausfrieren überzeugend, die nicht unter brachten, wo die Wirkung der Überkältung beginnt.

Setzen wir das *Paramaecium* einer langdauernden Einwirkung der Überkältung aus, dann bekommen wir gequollene kugelförmige Gebilde; andere Infusorien schrumpfen zusammen, während es bei letzteren schwer ist, festzustellen, ob das ursprüngliche Volumen größer oder kleiner war, da die jetzige Form eine ganz unregelmäßige ist. Derartige langdauernde resp. allmähliche Überkältung wurde in Kapillarröhren verschiedenen Durchmessers unternommen und zwar waren die Kapillaren sorgfältig ausgelaugt, damit die für die Infusorien schädliche alkalische Glasschicht entfernt wird. Die Kapillarröhrchen wurden mit *Paramaecium* resp. anderen Infusorien gefüllt und in Eisschränke von verschiedenen t° gebracht. Die Schnelligkeit, mit der die Infusorien zugrunde gehen, hängt von der Überkältungstemperatur, sowie von der der letzteren vorangehenden Temperatur ab.

So gingen Infusorien von einer $t^0 + 18^0 \text{ C}$

auf in	+ 0,9 72 Stdn.	0° 60 Stdn.	— 2° 12—24 Stdn.	— 3° 7 Stdn.	18° (kontroll.) 216 Stdn.
-----------	-------------------	----------------	---------------------	-----------------	------------------------------

zugrunde.

Die Zahlen haben keinen absoluten Wert, sondern weisen nur auf eine gewisse empirisch festgestellte Regelmäßigkeit hin.

b) Das Angewöhnen an Überkältung.

Wie schon bekannt ist, besitzen alle Colloide leblose, wie auch lebendige, ein Angewöhnen und Anpassungsfähigkeit. Reines destilliertes Wasser (Leitfähigkeit = $2 \cdot 10^{-6}$) wirkt tödlich auf die Infusorien — *Paramecium*, doch indem wir sie allmählich in ein immer reineres Wasser übersetzen, gelingt es, die Paramäcien eine ziemlich lange Zeit zum Leben in destilliertem Wasser zu gewöhnen.¹⁶⁾ Dasselbe ist der Wirkung der Gifte, hoher Temperatur usw. gegenüber zu bemerken.

Für die Überkältung gelang es auch eine gewisse Gewöhnungsfähigkeit zu konstatieren. So lebten nach Übertragen aus -1^0 in -3^0 , -2^0 und $-0,9^0$ die Infusorien in diesem Substrat 14, 25 und 30 Tage; die aus 0^0 übertragenen lebten bei denselben Temperaturen von 3, 15—90 Tagen. Infusorien, die allmählich bis 0^0 überkältet waren, lebten 96 Tage bis zum Ende des Experiments.

Die Kapillaren waren in diesen Experimenten durch enge Röhrchen ersetzt worden; dieses wurde für den Zweck gemacht, daß man die Nahrungsflüssigkeit jeden Tag mit Hilfe einer Pipette wechseln konnte, indem man die früher gekältete Substanz abgoß. Bei -1^0 und 0^0 beobachteten wir Teilung der Infusorien. Bei -1^0 gelang es nur eine zu beobachten, die sich zu teilen begann und die den Prozeß nicht zum Ende führen konnte und im Laufe von 17 Tagen gestorben war. Bei 0^0 waren folgende Perioden zwischen zwei Teilungen beobachtet worden:

D_1	= 34 Tage
D_2	= 8 "
D_3	= 13 "
D_4	= 15 "
D_5	= 12 "
D_6	= 35 "
D_7	= 13 "

Wie man aus den Ziffern ersieht, haben wir hier 2 Depressionen: eine von 34 Tagen, die andere von 35 Tagen. Mit niedrigeren

¹⁶⁾ H. ESTABROOK: Journ. of Experim. Zoology 1910 Vol. 8.

Temperaturen war es unmöglich gewesen zu arbeiten, weil man dann zu enge Kapillaren gebrauchen müßte und in diesem Fall, wie es CRAMPTON¹⁷⁾ bemerkt, verändert sich das Betragen der einfachsten im Vergleich mit den normalen Bedingungen. Fast alle Paramäcien starben, indem sie sich abkugelten. Um zu erfahren, ob dies von der Veränderung des Mileurs, d. h. der Heuinfusion kommt, wurde seine Elektroleitfähigkeit vor und nach der Überkältung gemessen. Die Resultate waren folgende:

Tabelle IV.

Leitfähigkeit der Heuinfusion bei $+ 18^{\circ}$.

Vor der Überkältung	Nach der Überkältung 72 Stdn. in $- 1^{\circ}$
$4,2 \cdot 10^{-4}$	$4,0 \cdot 10^{-4}$
$4,3 \cdot 10^{-4}$	$4,9 \cdot 10^{-4}$
$6,9 \cdot 10^{-4}$	$6,8 \cdot 10^{-4}$
$6,4 \cdot 10^{-4}$	$6,5 \cdot 10^{-4}$

Die Messungen zeigten eine unbedeutende Vergrößerung der Leitfähigkeit, die der Mineralisation des Milieus bei Zimmertemperatur zuzuschreiben ist. Die Heuinfusion, die 72 Stunden bei $- 2^{\circ}$ geblieben ist, übt keine schlechte Wirkung auf die Paramäcien aus; ihr Untergang hängt nicht von der Veränderung des Substrates, sondern von der Wirkung der Kälte ab. Das Abkugeln der Infusorien entsteht bei ihrer Quellung. Hat es schon angefangen, dann geht es zu Ende auch bei Zimmertemperatur und einige platzen vor unseren Augen. Um sich zu überzeugen, ob die Infusorien wahrhaftig quellen, wurden Messungen eines normalen und abgekugelten gequollenen *Paramecium* gemacht.

Normale Infusorien haben die Form eines Ellipsoides $\frac{4}{3} \pi a \cdot b \cdot c = 116,2$ kubische Teilungen des Mikrometers.

Ein zur Kugelform gequollenes Diameter = 10 T. und Radius = 5 T. = $\frac{4}{3} \pi r^3 = 523,7$ kubische Teilungen.

Also erhalten wir, daß die gequollene etwa 4 mal größer ist.

Es ist zu bemerken, daß das Quellen auch in Teichwasser stattfindet. Um zu beurteilen, ob wir hier ein kolloidales oder osmotisches Quellen haben, beobachten wir die abgekugelten Infusorien unter dem Mikroskop, in dem wir Zucker und Glycerinsolution

¹⁷⁾ CRAMPTON: Experiments performed upon Protozoa confined in capillary tubes. Arch. f. Protistenk. Bd. 27, 1912.

hinzufügten, die nach FISCHER¹⁸⁾ keine Wirkung auf das kolloidale Quellen haben. Die Messungen der Mittellinie zeigen folgendes:

Tabelle V.

Allmähliches Hinzufügen von Zucker		Hinzufügen von Glycerin	
a	b	a	b
8 $\frac{1}{2}$ Teile	8 $\frac{1}{2}$ Teile	9 $\frac{3}{4}$ Teile	9 $\frac{3}{4}$ Teile
9 $\frac{1}{4}$ "	8 "	9 $\frac{1}{2}$ "	8 $\frac{1}{2}$ "
Nach 7 Min. 10 Teile	7 $\frac{1}{2}$ "	9 "	6 "
11 $\frac{1}{4}$ Teile	6 "	9 "	4 "
11 $\frac{3}{4}$ "	4 $\frac{1}{4}$ "	7 $\frac{1}{2}$ "	4 "
11 $\frac{3}{4}$ "	3 "		

Merkwürdig, daß die Infusorien, die durch das osmotische Quellen sich zu Kugeln verwandelt haben, bei der Wirkung von Zucker und Glycerinsolution wieder ihre ellipsoidale Form annehmen. Es ist daran zu denken, daß sie es mit Hilfe ihrer Skelettfasern vollbringen. In derselben Weise wirkt NaCl, indem es osmotisch das Wasser wegzieht. Es ist zu konstatieren, daß die Membrana des gequollenen *Paramaecium* impermeabel für NaCl ist. Folgende Messungen ergaben:

a	NaCl	b
11 $\frac{1}{3}$ Teile		8 Teile
11 "		6 "
11 $\frac{1}{2}$ "		5 $\frac{1}{2}$ "
11 $\frac{1}{2}$ "		6 "
9 "		3 "

Bei dem Versuch, die Reaktion des gequollenen *Paramaecium* mit Hilfe eines Indikators festzusetzen, ergab sich, daß z. B. Kongorot durch die Membran nicht durchgeht. Wenn diese Quellung osmotisch ist und die genannten Salze durch die Membran nicht durchgehen, ist es klar, daß das Quellen durch die niedrigen Temperaturen und dem Anhäufen gewisser Salze oder anderer chemischer Produkte im Körper des *Paramaeciums* verursacht wird. Diese chemischen Produkte ziehen osmotisch das Wasser an. Das Anhäufen osmotisch-aktiver Produkte kann in folgender Weise vorgesetzt sein: schon bei früheren Forschern wurde es bemerkt, daß die *Amoeba* in gefrierendem Wasser sich abkugelt. Nach der Meinung von ISCHIKAWA¹⁹⁾ wird das durch das Anhäufen der Zersetzungsprodukte be-

¹⁸⁾ M. FISCHER: Ödem 1914.

¹⁹⁾ ISCHIKAWA: Experimentelle Studien über die Formbildung bei Amöben. Zeitschr. f. allg. Physiol. 1912—13.

wirkt; diese wirken auf die Oberflächenspannung des Protoplasmas, indem sich das Tier abkugelt. Wir lassen die höchst komplizierte Frage der Rolle der Oberflächenspannung zurseite.²⁰⁾ Wir wissen, daß in biologischen Prozessen jeder physikochemische Prozeß eine gewisse streng mit einem anderen Prozeß harmonisierende Geschwindigkeit hat. Die Kälte wirkt auf sie nicht in demselben Maße, d. h. daß der Temperaturkoeffizient verschiedener physikochemischer Prozesse der Zelle nicht ein und derselbe ist. Darum wird die Harmonie der physiko-chemisch-biologischen Prozesse zerstört. Bei der Überkältung ist es sehr wahrscheinlich, daß die Exkretprozesse sehr in ihrer Energie im Vergleich zu den anderen Prozessen fallen. Das Intervall zwischen zwei Pulsierungen der pulsierenden Vakuole bei *Paramaecium caudatum* bei 0° überkältet und bei t. 4° untersucht, dauerte mehr als 12 Minuten. Die Anhäufung der Exkretprodukte im Körper des Tieres zog osmotisch das Wasser an. Eine schnelle nicht dauernde Überkältung schadet den Tieren nicht, denn in solch einer kurzen Zeit wird die Harmonie der biologischen Prozesse nicht zerstört und die Zersetzungsprodukte häufen sich nicht an. Bei langsamer und dauernder Unterkältung beobachten wir diese Prozesse. Hier ist sehr interessant der Prozeß des Angewöhnens, welcher dem Protozoon die Möglichkeit gibt, länger der Disharmonie, die in seinem Körper stattfindet, zu widerstehen. Doch tritt zum Schlusse auch hier das Abkugeln und das Quellen ein. Dieser Prozeß, wie Mehreres was bei dem Leben der beweglichen Zelle bei der Unterkältung von uns betrachtet war, erfordert eine spezielle Arbeit. Wir bemerken, daß die Vakuolisierung und das Quellen der Zelle auch in den Geweben der höheren Tiere stattfindet.²¹⁾

Zum Schlusse spreche ich Herrn Prof. N. K. KOLTZOFF für sein reges Interesse an dieser Arbeit meinen tiefsten Dank aus.

Zusammenfassung.

1. Es wurde der Einfluß von niedrigen T° T° auf Infusorien (*Paramaecium*, *Colpidium*, *Frontonia* u. a.) vom Standpunkte der physikalischen sowohl wie der Kolloidchemie experimentell untersucht.

²⁰⁾ L. MICHAELIS: Dynamik der Oberflächen. FREUNDLICH, Kapillarchemie 1909.

²¹⁾ A. SMISLOWA: Über das Gefrieren der Lungen. Diss. 1909. Petersburg (russisch).

2. Die Bezeichnungen „Ausfrieren“ und „Unter­kältung“ werden hier im gewöhnlichen physikalischen Sinne gebraucht.

3. Unter -4° starben die Infusorien sehr rasch ab (Tab. I).

4. Bei den Versuchen über Ausfrieren wurden Wassermengen von 10–15 Tropfen verwendet.

5. Die Bildung von kapillaren Räumen im *Subtilis*-Rasen auf den Heuaufgüssen begünstigt die Überkältung der Flüssigkeit und die Kältefestigkeit der in ihr erhaltenen Infusorien (Tab. II).

6. Der Eisdruck spielt bei der Abtötung der Infusorien wahrscheinlich keine Hauptrolle.

7. Das Eis bewirkt das Zustandekommen von irreversiblen Prozessen der Entwässerung (resp. Austrocknung) der Kolloide des Zellprotoplasma der Infusorien.

8. Im ausgefrorenen Zustande können die Infusorien nicht überwintern.

9. Durch rasche und kurze Überkältung (nicht unter -9°) werden die Infusorien nicht geschädigt; dagegen durch langdauernde.

10. Die Absterbungsgeschwindigkeit der Infusorien ist desto größer, je niedriger die T° der Überkältung und je bedeutender der Temperatursturz (gradient) ist.

11. Die Infusorien können sich an die Überkältung gewöhnen.

12. Bei 0° teilen sich die Paramäcien ca. einmal in 13 Tagen. Der Depressionszustand dauert bei dieser T° bis zu 35 Tagen.

13. Bei langdauernder Überkältung kugeln sich die Paramäcien ab. Dabei quellen sie und ihr Volum vergrößert sich um das 4–5fache. Letzteres hängt mit osmotischen Prozessen zusammen.

14. Zucker und Chlornatrium dringen durch die Hülle der gequollenen Paramäcien nicht ein. In diesen Substanzen kehren sie zu ihrer ursprünglichen Form zurück.

15. Die osmotische Quellung der Paramäcien bei der Überkältung hängt von den T° -Koeffizienten der verschiedenen sich in ihrem Körper abspielenden physikochemischen Prozesse ab.

16. Die Geschwindigkeit der Abbauprozesse im Körper der Infusorien wird durch die T° -Erniedrigung weniger herabgesetzt, als diejenige der Aufbauprozesse. Dadurch wird die Anhäufung der Zersetzungsprodukte im Zellprotoplasma der Infusorien bedingt.

17. Bei der T° -Erniedrigung fällt die Tätigkeit der pulsierenden Vakuole deutlich ab, wodurch die Ausscheidung der Zersetzungsprodukte aus der Zelle verlangsamt wird.

18. Die Zersetzungsproducte ziehen auf osmotischem Wege Wasser in das Plasma der Paramäcien an.

19. Bei der Überkältung quellen die Paramäcien und kugeln sich ab. Bei Zusatz von Glycerin oder von Zucker werden die gequollenen Infusorien entwässert und kehren, dank ihrer Skelettfasern, wieder zu ihrer ursprünglichen Ellipsoidform zurück.

20. Die Hülle der gequollenen Paramäcien nähert sich ihren Eigenschaften nach den semipermeablen Membranen.

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

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

Jahr/Year: 1924

Band/Volume: [49_1924](#)

Autor(en)/Author(s): Efimoff W.W.

Artikel/Article: [Über Ausfrieren und Überkältung der Protozoen
433-446](#)