Nachdruck verboten.
Übersetzungsrecht vorbehalten.

(Begonnen im zool. Institut Berlin, vollendet im zool. Institut Heidelberg.)

Beiträge zur Kenntnis von Difflugia urceolata Carter.

Von

Margarete Zuelzer (Heidelberg).

(Hierzu Tafel X—XII und 2 Textfiguren.)

Material und Untersuchungsmethoden.

Die zu nachstehenden Untersuchungen verwandten Difflugien stammen aus an Sphagnum reichen Torfmooren im Grunewald bei Berlin; sie sind dort häufig. Ich erhielt oft sehr reiche Kulturen, wenn ich Sphagnum mit Torfwasser in großen Glasschalen wachsen ließ. Es empfiehlt sich, die Kulturen nicht der grellen Sonne auszusetzen. Nach einigen Wochen fand sich in mindestens der Hälfte der so angesetzten Gläser eine reiche Fauna von Difflugia urceolata, pyriformis und lobostoma, Lecquereusia spiralis, sowie Arcella vulgaris. Zur Untersuchung wählte ich Difflugia urceolata Carter; sie ist wegen ihrer Größe (Schalenlänge 200—400 μ) und Dünnschaligkeit ein verhältnismäßig angenehmes Untersuchungsobjekt.

Am lebenden Tiere ist wegen der Undurchsichtigkeit der Schale wenig zu sehen. Öfters wurde die Schale vorsichtig lospräpariert, doch kommt man damit nicht weit. Es ist deshalb meist nötig, die Tiere in möglichst feine Schnitte zu zerlegen. Zu diesem Zwecke wurden sie in Paraffin eingebettet, und zwar in kleinen, sehr tiefen Uhrschalen, in denen die durch ihre Schalen beschwerten Difflugien stets auf den Boden sinken und dort dicht beieinander liegen. Das Schneiden ist wegen der steinigen Schalen unbequem, doch gelang

Digitized by Google

es durch Überstreichen des Paraffinblocks mit HEIDER's Mastix-Kollodiumlösung. Ich konnte so, selbst von sehr spröden Cysten, Schnitte bis zu 2 μ Dicke herstellen.

Konserviert wurde fast nach allen gebräuchlichen Methoden; die besten Resultate, besonders für Cysten, ergab die Behandlung mit dem schwachen FLEMMING'schen Gemisch; für unencystierte Tiere bewährte sich außerdem Sublimatlösung mit absolutem Alkohol, im Verhältnis 2 : 1, wie SCHAUDINN es oft empfiehlt, erwärmt und mit einer Spur Eisessig versetzt; ferner heißer 70proz. Alkohol und Osmiumdämpfe. Für Cystenfixierung benutzte ich häufig auch Pikrinessigsäure oder Pikrinosmiumsäure, doch lieferte Chromosmiumessigsäure bessere Präparate.

Für Totofärbung der unencystierten Tiere wurde Boraxkarmin mit Erfolg angewendet. Bei Schnittfärbungen ergab die FLEMMING-sche dreifache Färbung, Safranin, Gentianaviolett, Orange nacheinander, sowohl bei unencystierten wie bei encystierten Tieren die besten Resultate. Man kann mit ihr die feinsten Differenzierungen erreichen. Dies ist für die verschiedenen Bestandteile, welche deutlich gemacht werden müssen, von großer Wichtigkeit. Vielfach wurde auch mit Safranin oder Boraxkarmin und nachfolgender, sehr verdünnter Lösung von Bleu-de-Lyon gefärbt, was gute Übersichtsbilder lieferte. Außerdem wurde noch mit Eisenhämatoxylin, sowie mit DELAFIELD'schem Hämatoxylin gefärbt, letzteres schwach angesäuert, wie BÜTSCHLI es für die Chromatinkörner des Zentralkörpers der Cyanophyceen angibt.

Ich möchte gleich erwähnen, daß Lebendfärbungen der Difflugien negative Resultate ergab. In mit Kulturwasser hergestellten, sehr verdünnten Lösungen von Neutralrot oder Methylenblau lebten die Tiere 24—48 Stunden. Es färbten sich aber deutlich nur die toten, als Nahrung aufgenommenen Bestandteile. Schwach färbten sich ferner die feinsten Körnchen im Protoplasma; Kerne und alles übrige blieb absolut ungefärbt. Erst wenn man die Tiere zerquetscht und sie in der Farblösung absterben, beginnt eine deutliche Färbung ihrer Bestandteile einzutreten.

I. Unencystierte Tiere.

A. Schalenbau.

Auf die Schalen der Difflugien möchte ich nur ganz kurz eingehen und verweise auf die ausführlichen Arbeiten von RHUMBLER

(1891 95). Auch ich fand häufig Doppelschalen, in denen die beiden Öffnungen einander diametral gegenüber lagen; jedoch auch einmal eine, in welcher die Öffnungen dicht nebeneinander lagen.

Das Schalenmaterial besteht, wie bekannt, größtenteils aus Fremdkörpern. Es wird meistens vor der Bildung einer neuen Schale, ähnlich wie die Nahrung, in das Protoplasma aufgenommen und in der vorderen Region desselben aufgespeichert (intrathalame Aufspeicherung). Außerdem fand ich häufig außen vor der Schalenmündung aufgespeichertes Schalenmaterial, welches die Tiere mit sich umhertrugen. Wie dies dorthin gelangte, weiß ich nicht (extrathalame Aufspeicherung). Verworn (1888) fand bei Difflugia urceolata nur intrathalam aufgespeichertes Schalenmaterial. Ich möchte betonen, daß ich häufig extrathalam aufgespeichertes fand, weil Rhumbler (1895) die Art der Schalenmaterialaufspeicherung für eine Systematik der beschalten Süßwasserrhizopoden zu verwenden vorschlägt.

Die Schalen sind aus Sandkörnchen und aus offenbar vom Plasma ausgeschiedenen kleinen runden Plättchen aufgebaut. Erstere findet man häufig vor der Mündung aufgespeichert, letztere dagegen im Plasma der Difflugien wieder. Rhumbler (1895) gibt eine bequeme Methode der Unterscheidung dieser beiden Bestandteile an: die Sandkörnchen bestehen aus kristallinischer Kieselsäure und sind also doppeltbrechend; die ausgeschiedenen runden Plättchen dagegen bestehen aus amorpher Kieselsäure und sind einfachbrechend. Ich kann diese Tatsachen bestätigen. Die Plättchen im Weichkörper der Tiere sind stets einfachbrechend und sind daher auch in fertigen Schalen leicht wiederzuerkennen.

Das dünne Häutchen, welches die Steinchen der Schale zusammenhält, löst sich in 2proz. Kalilauge sofort, färbt sich mit Jod stark gelb und ist vermutlich ein Eiweißkörper.

B. Difflugien im Frühling.

1. Biologisches.

Wenn man im Frühling, etwa vom Mai an, Difflugia urceolata beobachtet, so sieht man die Tiere lebhaft umherkriechen. Die 2—7 lobosen Pseudopodien sind dünn, hyalin und werden oft doppelt so lang wie die Schale. Es fällt auf, daß sie häufig plötzlich, scheinbar grundlos, umknicken, sich runzeln und dann schnell eingezogen werden. Berührt man die Pseudopodien, mit denen die Tiere auf ihrer Unterlage umherkriechen, so werden sie runzelig und lösen

Digitized by Google

sich von der Unterlage ab. Kleine Glaspartikelchen bleiben jetzt an ihnen kleben, worauf die Pseudopodien gewöhnlich schnell eingezogen werden. — Die Tiere kriechen auf den Pseudopodien umher, so daß die Schalenöffnung gewöhnlich vom Beschauer abgewandt ist. Sie umfließen mit ihnen die Nahrung, meist Diatomeen und kleine Algen. Doch wurde auch die Aufnahme langer Algenfäden beobachtet. — Die Schalenhöhle ist meist nur halb vom Plasma erfüllt.

2. Bau.

a) Protoplasma. Im Körper der Difflugien lassen sich drei verschiedene Zonen voneinander unterscheiden. Unterhalb der Mündung befindet sich eine Zone von Plasma, welche lebend ziemlich hyalin erscheint; in ihr kann man feinste Körnchen wahrnehmen, welche stark lichtbrechend sind. Auf Schnitten sieht man, daß das Plasma in dieser oralen Zone sehr feinwabig ist. Die feinen Körnchen färben sich ebenso wie das Plasma und verhalten sich auch bei Verdauungsversuchen ebenso. Das Plasma der darunter liegenden Zone, der mittleren, ist großwabiger. Es enthält die kontraktilen, die Nahrungsvakuolen und die Nahrungsreste. Auch finden sich häufig Tröpfchen, die sich mit Osmiumsäure schwärzen, also fettartig sein dürften. In der unteren Partie dieser Zone finden sich die oben erwähnten Schalenplättchen, kleine runde, stark lichtbrechende Gebilde (Taf. X Fig. 12sp) von gelblicher Farbe. Sie färben sich mit keinem der verwendeten Farbstoffe und sind völlig indifferent gegen Jod, kalte Alkalilösungen, Salz-, Salpeter- und Osmiumsäure. Wie schon hervorgehoben, sind sie einfach brechend.

In der basalen Zone, welche jedoch, die mittlere umfassend, sich peripher nach der Mündung emporzieht, liegen die Kerne und die Chromidialsubstanz.

An der gesamten Oberfläche des Weichkörpers, direkt unter der Schale, findet sich eine dünne Schicht reinen Plasmas. Diese ist eine Fortsetzung der oralen Plasmazone und führt dieselben feinen Körnchen wie diese.

b) Kerne. Difflugia urceolata ist vielkernig. Ziemlich im Grunde der Schale liegen die ca. 10 bis 30 Kerne, welche 14—25 μ Durchmesser besitzen. In Tieren, deren Weichkörper 216 μ lang war, fand ich ca. 20 Kerne von 20–22 μ Durchmesser; in einem Weichkörper von 270 μ Länge Kerne von 16—24 μ Durchmesser; im Weichkörper von 144 μ Länge Kerne von 18—22 μ Durchmesser. Die Kerne haben stets eine doppelt konturierte Membran, welche auch an lebenden Kernen deutlich zu sehen ist. Lebende Kerne sind stets kugelig und

erscheinen wie eine von Flüssigkeit erfüllte Blase. In derselben bemerkt man viele stärker brechende Binnenkörper. Diese liegen der Membran nie dicht an, vielmehr findet sich unter der Membran stets eine körnerfreie Zone; ein Kerngerüst kann man am lebenden Kerne nicht wahrnehmen (Taf. X Fig. 6a u. b). Die Binnenkörper liegen oft im Kern ziemlich gleichmäßig verteilt, oft nur in einer engeren, zentralen Zone. Sie sind stark lichtbrechend und deutlich vakuolisiert (Taf. X Fig. 6c). Sie sind kugelig, doch verschmelzen nicht selten einzelne miteinander, ja sogar viele zu wurst- oder perlschnurartigen Gebilden. Die Größe der Kerne und die Anordnung ihrer Binnenkörper schwankt im selben Tier, im Gegensatz zu anderen vielkernigen Rhizopoden, z. B. Trichosphaerium, bei dem Schaudinn (1899) stets alle Kerne gleich fand.

Auf Schnitten zeigt die auffallend starke Kernmembran bei allen Doppelfärbungen stets die gleiche Farbe wie das Plasma; dies läßt auf ihre plasmatische Herkunft schließen. Im Kerninnern ist auf Schnitten ein feines, mäßig lichtbrechendes Gerüstwerk unterscheidbar; man untersucht dies am besten auf möglichst dünnen Schnitten in verdünntem Glyzerin. Die klarsten Bilder lieferten hierfür Präparate, welche mit chromsaurem Kali und Hämatoxylin gefärbt waren (Taf. X Fig. 7). Im Flemming'schen Dreifarbengemisch färbt sich das Kerngerüst mattblau mit Gentianaviolett, auch bei Doppelfärbungen von einem Kernfarbstoff (Safranin oder Boraxkarmin) mit Bleu-de-Lyon nahm es eine matte Blaufärbung an. Das Gerüst erscheint wie ein Netzwerk; doch ist dies wohl der optische Ausdruck für ein Alveolenwerk; ich schließe dies aus dem häufig auftretenden Alveolarsaum, zu welchem die Maschen des Gerüstes meist unterhalb der Membran angeordnet sind. Der Inhalt der Alveolen wird von schwach lichtbrechendem Kernsaft gebildet. In die Knotenpunkte des Alveolenwerks sind feinste Körnchen eingelagert, welche sich ebenso wie das Kerngerüst färben.

c) Chromidialsubstanz. In der basalen Zone finden wir außer den Kernen im Plasma eine körnige Masse, welche im Leben durch starkes Lichtbrechungsvermögen auffällt. Mit allen Kernfarbstoffen (Eisenhämatoxylin, Safranin, Borax-Karmin) färbt sie sich ebenso stark wie die Binnenkörper der Kerne und hebt sich dann sehr deutlich von dem blassen Protoplasma ab. Hertwig (1899 und 1902) bezeichnet die Masse als das Chromidial- oder Chromatinnetz. In unserem Falle ist die Anordnung jedoch noch nicht netzartig. Vielmehr sind die Bilder, welche die Chromidialsubstanz in diesem Stadium zeigt, die durchaus unregelmäßiger Balken und

Klumpen von ganz ungleicher Größe und Form (Taf. I Fig. 1 u. 1a *chr*). Verschmelzen größere Partien der Chromidialsubstanz miteinander, so entsendet sie dann Balken und Ausläufer ins Plasma (Taf. X Fig. 10 u. 12 chrs). Häufig ist die ganze Masse aber auch in kleine und kleinste Partikel zerspalten, welche unregelmäßig im Plasma liegen.

Direkte Beziehungen zwischen dieser Chromidialsubstanz und den Kernen konnte ich auf diesem Stadium nicht wahrnehmen. Viele der Kerne liegen, ohne von Chromidialsubstanz umgeben zu sein, direkt im Plasma; an anderen Stellen wieder liegen Balken und Klumpen von Chromidialsubstanz im Plasma, ohne daß sich Kerne in ihrer Nähe befinden. Die Chromidialsubstanz dieses Stadiums zeigt im Innern der recht kompakten Masse zahlreiche kleine Vakuolen von sehr verschiedenem Durchmesser, deren Inhalt jedenfalls flüssig ist (Taf. X Fig. 1a). Man sieht die Masse zwischen zwei Vakuolen oft in lange schmale Brücken ausgezogen, was es wahrscheinlich macht, daß ihre stark färbbare Grundsubstanz zähflüssig ist.

d) Kernspindelähnliche Gebilde. Im Plasma mancher Tiere, auch zwischen den Brocken der Chromidialsubstanz fand ich häufig Gebilde, ca. 12 μ lang, 20 μ breit, welche ich erst für Kernspindeln hielt (Taf. X Fig. 9a—e). Sie erinnern ziemlich lebhaft an die chromatinarmen Spindeln, wie sie R. Hertwig (1899) für Arcella abbildet (Taf. XXIX Fig. 5, 6a, 6b, 8). Diese Gebilde bestehen aus Fäden, die sich im Flemming'schen Gemisch sehr matt rötlich tingieren; sie durchziehen die spindelförmigen Gebilde meist längs, sind aber manchmal auch unregelmäßig-knäulig angeordnet, und zeigen an den Enden oft Stellen, die stärker gefärbt sind. Nachdem ich solche Gebilde öfter untersucht habe, scheint es mir sicher, daß sie nichts mit den Kernen der Difflugien zu tun haben. Es wäre auch schwer verständlich, daß die chromatinreichen Difflugienkerne so chromatinarme Spindeln liefern sollten. In den Fäden dürfen wir wohl fremde Organismen, wahrscheinlich Bakterienfäden erblicken. Die rötere Färbung an den Enden scheint daher zu rühren, daß die Fäden hier umgebogen sind und daher im optischen Querschnitt gesehen werden. In einem und demselben Tiere fand ich höchstens 4—8 solcher Gebilde neben 12—20 Kernen.

C. Veränderungen der Chromidialsubstanz im Laufe des Sommers.

a) Bau der Chromidialsubstanz. Im Laufe des Sommers kann man verfolgen, daß die Chromidialsubstanz regelmäßige typische

Veränderungen durchmacht. Sie wird voluminöser, indem ihre Vakuolisation fortschreitet (Taf. X Fig. 2). Die Vakuolen oder Alveolen wachsen nach und nach etwas und gleichen sich in ihrer Größe mehr aus; auch vermag man jetzt schon zu bemerken, daß der stark färbbare Teil der Chromidialsubstanz oder ihr Gerüstwerk viele kleinste Körnchen enthält, welche sich mit allen Kernfarbstoffen scharf tingieren und daher die Färbbarkeit des Gerüstwerks bedingen. — An den Kernen treten keine Veränderungen auf.

Von ungefähr Anfang September ab ist durch die fortschreitende Vakuolisation das Bild der Chromidialsubstanz ein anderes geworden (Taf. X Fig. 3a). Die Chromidialsubstanz bildet nun etwa ein Drittel bis die Hälfte des ganzen Weichkörpervolumens (Taf. X Fig. 8). Ihre gesamte Masse ist meist im kontinuierlichen Zusammenhang und entsendet Balken und Ausläufer ins Plasma. Aber auch hier findet man kleine, losgetrennte Partien isoliert im Plasma, welche nur 3, 2 oder 1 Vakuole enthalten. Eine Abgrenzung ihrer Masse vom Plasma durch eine Membran findet sich jetzt ebensowenig, wie bei den Frühlingstieren. Die Färbbarkeit der Substanz tritt wegen der großen, blassen Vakuolen nicht mehr so stark hervor.

Die Grundsubstanz, welche bei den Frühlingstieren fast allein die stark gefärbte Chromidialsubstanz darstellte, ist jetzt auf die Gerüst- oder Zwischensubstanz zwischen den dicht gedrängten Vakuolen reduziert. Wie gesagt, erkennt man nun, daß die starke Färbbarkeit von kleinsten Körnchen herrührt, die sich mit Kernfarbstoffen stark tingieren und in eine achromatische Grundsubstanz eingelagert sind. Am klarsten werden die Verhältnisse, wenn man die kleinsten isolierten, im Plasma liegenden Chromidialsubstanzteile untersucht (Taf. X Fig. 3b). Es sind dies kleine Hohlkugeln von ca. 3—4 μ Durchmesser. Sie bestehen aus einer achromatischen Hülle, in welche die kleinen, mit Kernfarbstoffen färbbaren Körnchen eingelagert sind. Den Inhalt einer jeden Kugel bildet eine Vakuole. Stoßen mehrere solche isolierte Hohlkugeln zusammen, so verschmelzen ihre Hüllen zu einer gemeinsamen Wand und bilden so ein Wabenwerk, dessen Wände die achromatische Grundsubstanz mit den vielen, stark färbbaren, eingelagerten Körnchen, den Wabeninhalt die früheren Vakuolen bilden (Taf. X Fig. 3a). Die stark gefärbten Körnchen liegen dann in den Wabenwänden oft so zahlreich und dicht aneinander, daß sie als gleichmäßig gefärbte Masse erscheinen und die achromatische Grundsubstanz häufig ganz verdecken (Taf. X Fig. 3c). Die Knotenpunkte dieses Wabenwerks werden durch stärkere Tinktion besonders deutlich. Ob dies von stärkerer Körnchenanhäufung

Digitized by Google

oder von größeren Körnchen herrührt, konnte ich nicht entscheiden (Taf. X Fig. 3a, b).

Die einzelnen Waben, die sich durch irgendwelche Wirkungen abgelöst haben, bilden also die kleinsten Kügelchen, welche bei erneutem Zusammentritt ihrer Wände der Zwischen- oder Gerüstsubstanz ein neues Wabenwerk bilden können. Vergleichbare Verhältnisse hat Zettnow (1896) bei Spirillum undula minus photographiert. Es handelt sich dort um Plasmawaben, welche sich beim Absterben der Spirillen durch Spaltung der flüssigen Wände als kleine Hohlkügelchen ablösen und isolieren.

Bei Betrachtung des lebenden Tieres werden diese Verhältnisse verständlicher. Um lebende Chromidialsubstanz studieren zu können, präparierte ich die Schale vorsichtig ab und presste die Tiere unter dem Deckglas. Deutlich kann man nun die Chromidialsubstanzkügelchen, die stärker lichtbrechend als das Wasser und das sie umgebende Plasma sind, beobachten. Die Kügelchen kleben in größeren Partien aneinander. Durch die lebhafte Plasmaströmung werden sie umhertransportiert, dabei in sich vorwölbende Partien des Plasmas mitgerissen und durch die starke Strömung häufig ganz voneinander isoliert. Manchmal liegen nur noch zwei oder drei Kügelchen aneinander. Große Klumpen und Ballen von Chromidialsubstanz wurden durch die Strömung in kurzer Zeit in einzelne Kügelchen gespalten. An anderen Stellen wieder konnte ich deutlich sehen, wie die isolierten Kugeln, wenn sie in dem Plasmastrom einander berührten, aneinander kleben blieben und fortgesetzt neue Kugeln in ihren Verband aufnahmen, so daß ein Wabenwerk von Chromidialsubstanz sich vor meinen Augen bildete. Daß die einzelnen Chromidialkügelchen so leicht miteinander verkleben und verschmelzen, und ebenso durch mechanische Wirkung, wie doch die Plasmaströmung eine ist, wieder so leicht voneinander getrennt werden können, deutet mit Bestimmtheit auf ihre flüssige Beschaffenheit hin.

Durch das Studium des lebenden Tieres werden die Präparate viel verständlicher. Man versteht, wie die große Mannigfaltigkeit der Bilder in bezug auf die Verteilung der Chromidialsubstanz im Tiere, zustande kommt. Häufig verschmilzt eben die ganze Masse zu einer netz- oder ringartigen Gesamtmasse; ebenso häufig aber sieht man größere Balken und Klumpen, die nicht miteinander in Verbindung stehen, im Plasma verteilt, und daneben isolierte kleine Kügelchen oder Elemente der Chromidialsubstanz.

Die Hülle der einzelnen Kügelchen, welche die Chromidialsubstanz zusammensetzen, besteht also aus einer achromatischen zäh-

flüssigen Substanz, die sich kaum färbt und das Stroma für die in sie eingelagerten feinen Körnchen liefert.

Die erwähnten feinen Körnchen der Chromidialsubstanz färben sich mit angesäuertem Delafield'schem Hämatoxylin rot, ebenso bei Totofärbung der Tiere mit Borax-Karmin, dagegen schwarz mit Heidenhain'schem Eisenhämatoxylin. Letztere Methode zeigt am besten, wie die scharf tingierten Körnchen in die ungefärbte Grundsubstanz eingelagert sind. An den nach Flemming's Methode (Safranin, Gentianaviolett, Orange) gefärbten Schnitten werden die kleinen Körnchen meist vom Safranin rot gefärbt, nehmen jedoch auch manchmal vom Gentianaviolett einen blauen oder violetten Ton an.

Der Inhalt der Hohlkügelchen färbt sich gewöhnlich schwach diffus (Taf. X Fig. 3a), meist in der Farbe des Kerns, selten wie das Plasma. Bei Doppelfärbung von Safranin und Bleu-de-Lyon, zwei basischen Teerfarbstoffen, färbt sich der ganze Inhalt der Vakuolen diffus rötlich, und auch mit Methylenblau, das zeitweilig noch etwas alkalisch gemacht wurde, auch einem basischen Teerfarbstoff, färben sich charakteristisch nur die Körnchen in der Grundsubstanz, der Inhalt der Vakuolen bleibt ungefärbt oder nimmt einen matten diffusen bläulichen Schein an. Irgend ein konturiertes Inhaltsgebilde war im Vakuolen- oder Wabeninhalt nicht deutlich zu machen. — Um so erstaunlicher war es nun, daß es bei diesen Herbsttieren mit der Flemming'schen Färbung gelang, an Material, das mit Chromosmiumsäure, Pikrinessigsäure oder Sublimatalkohol konserviert war, in den Vakuolen ein deutlich konturiertes Inhaltsgebilde kenntlich zu machen (Taf. X Fig. 3c, d u. 4). Es füllt fast die ganze Vakuole aus und wird von Gentianaviolett — doch auch einem basischen Teerfarbstoff — deutlich blau gefärbt. Seine Größe beträgt etwa $1\frac{1}{2}$—2 μ. Dies blaue Inhaltsgebilde ist von einem ungefärbten Flüssigkeitshof umgeben. Je größer dieser helle Hof ist, desto deutlicher hebt sich die blaue Inhaltskugel von der durch ihre vielen eingelagerten Körnchen rot gefärbten Hülle ab. Es machte manchmal den Eindruck, besonders an Präparaten, bei denen die Gerüstsubstanz besonders massig und wegen der zahlreichen eingelagerten Körnchen fast homogen erschien, als ob von den blauen Inhaltskugeln durch den hellen Hof zur Gerüstsubstanz feinste Fädchen zögen. Dieses Bild beruht jedoch wohl auf optischen Erscheinungen (Taf. X Fig. 4).

Die Inhaltsgebilde der Chromidialsubstanzwaben sind schwächer lichtbrechend, als die stark färbbaren Körnchen der Hüllsubstanz. Letztere Körnchen sind stärker lichtbrechend als Kanadabalsam, das

Inhaltskorn dagegen ist schwächer lichtbrechend als Kanadabalsam. Daher erscheinen die Vakuolen der Chromidialsubstanz im Kanadabalsampräparate wie hohl und ich bemerkte erst verhältnismäßig spät die Inhaltsgebilde in ihnen. In Wasser untersucht, sind die kleinen eingelagerten Körnchen der Hülle viel, das Inhaltsgebilde der Wabe ein wenig stärker lichtbrechend als das umgebende Wasser. Zwischen gekreuzten Nikols erwiesen sich die Inhaltskörner schwach doppelbrechend; doch ist dies wegen ihrer Kleinheit nur undeutlich zu sehen. Die achromatische Grundsubstanz der Hülle ist sehr mässig lichtbrechend, und in Kanadabalsam kaum, in Wasser oder verdünntem Glyzerin schwer zu erkennen. Die Substanz des Hofes ist im Leben sehr schwach lichtbrechend und daher jedenfalls wässerige Flüssigkeit. Auf Kanadabalsampräparaten ist letztere natürlich durch Kanadabalsam ersetzt, und zeigt auf den Präparaten die Lichtbrechung desselben. Der Hof ist tatsächlich vorhanden und nicht etwa eine optische Erscheinung. Denn das Inhaltskorn ist verhältnismäßig nicht so stark lichtbrechend, daß man annehmen müßte, der Hof beruhe nur auf Reflexion oder Beugung des Lichts. Auch bleibt er und das Korn bei verschieden hoher oder tiefer Einstellung deutlich bestehen. Schließlich wird, besonders bei Färbung mit Flemming'schem Dreifarbengemisch, das Inhaltsgebilde blau und die Hülle wegen ihrer vielen eingelagerten Körnchen so charakteristisch rot gefärbt, daß sich beide Substanzen scharf von dem ungefärbten Hofe absetzen. Doch auch ungefärbt sieht man die verschiedenen Substanzen wegen ihrer verschiedenen Lichtbrechung sich voneinander absetzen. Am ungünstigsten zur Beurteilung dieser Verhältnisse sind Färbungen, bei welchen der ganze Inhalt diffus gefärbt erscheint, wie etwa mit Safranin und Blau-de-Lyon (Taf. X Fig. 3a, b).

b) Chemische Beschaffenheit der Chromidialsubstanz. Um mir über die Natur der Chromidialsubstanz weitere Klarheit zu verschaffen, wurden einige Verdauungsversuche angestellt. Die dazu verwandten Tiere wurden in 70proz. Alkohol bei 70° C fixiert, in Paraffin eingebettet, etwa 15 μ dick geschnitten und mit Wasser aufgeklebt. Die Chromidialsubstanz und auch die Kerne sind an diesen ungefärbten Präparaten deutlich zu erkennen. Auch wurden Difflugien später nur zerquetscht und mit warmem Alkohol unter dem Deckglas behandelt. Bei der hierbei eintretenden Eiweißgerinnung bleiben die Tiere am Objektträger haften und diese Methode ist zum Studium der durch Zerdrücken isolierten Chromidialsubstanzkügelchen in vielen Fällen angenehmer. Die Verdauungsversuche wurden ausgeführt mit künstlichem Magensaft (1000 Teile Wasser

100 Teile Schweinemagenschleimhaut, 15 Teile Salzsäure). Diese Lösung verdaute Hühnereiweiß, das in Alkohol aufbewahrt und dann gut ausgewaschen worden war, in 12 Stunden bei 40°. Schnitte, welche wie oben geschildert vorbehandelt worden waren, wurden unter ein von Glasfäden gestütztes Deckglas gebracht, um möglichst viel Flüssigkeit zum Objekt zutreten lassen zu können, und gut filtriertes Pepsin darauf gebracht; das Präparat wurde mit Paraffinrand luftdicht verschlossen und in einer feuchten Kammer 24 Stunden bei 40° im Wärmschrank aufbewahrt. Dann war das Plasma größtenteils, die Hüllsubstanz der Chromidialkugeln nur wenig verdaut, deren Inhaltsgebilde traten deutlich unverändert hervor. Die Kerne waren blaß, aber deutlich zu sehen.

Versuche mit Trypsin wurden wie die mit Pepsin vorgenommen. Ich verdanke das Trypsin Herrn Dr. Mays in Heidelberg, dem ich dafür vielen Dank sage. In der Trypsinlösung löste sich eine Fibrinflocke, die in Alkohol aufbewahrt und dann gut ausgewaschen war, bei Zimmertemperatur in 2 Stunden. Die Difflugienschnitte ließ ich 24 Stunden bei 40° im Trypsin und fand dann Plasma und Kerne fast restlos aufgelöst. Die Hüllen der Chromidialsubstanzkugeln waren verschwunden, dagegen waren deren Inhaltskörner völlig unversehrt und meist gänzlich isoliert und freigelegt. An diesen isolierten Körnern ist zu sehen, daß sie nicht nur kugelförmig, sondern häufig abweichend geformte Gebilde sind; auf Schnitten dagegen ist ihre Form wegen der dichten Zusammendrängung schwer zu erkennen. Die isolierten Körner sind häufig länglich, biskuitförmig, fast dreieckig, oder auch wie aus zwei oder drei winzig kleinen Kügelchen zusammengewachsen, oft jedoch auch kugelig (Taf. X Fig. 5). Sie erscheinen homogen; eine Schichtung ließ sich nicht wahrnehmen. Doch schien es mir öfters, als ob sich im Innern ein kleines Inhaltskörnchen befände. Die Trypsin- und Pepsinverdauungsversuche wurden an den so isolierten Gebilden 2—3 Tage bei 40° fortgesetzt — ohne Erfolg, sie blieben unverändert.

Behandelt man die Schnitte mit 1—2proz. Kalilauge, so quellen Plasma, Kerne und Chromidialsubstanzwände und lösen sich schließlich; dagegen bleiben die Inhaltskörner der Chromidialsubstanz unverändert, nur quellen sie etwas und werden dadurch deutlicher. Auch 24—48 Stunden fortgesetzte Behandlung mit 2proz. Kalilauge bei 40° ergab keine anderen Resultate. Werden die so durch Trypsin oder Kalilauge isolierten Inhaltskörner mit Jod behandelt, so färben sie sich sehr charakteristisch rötlich-braun, ungefähr mahagonifarbig. Beim Erwärmen verschwindet die Farbe, um beim Erkalten wieder

deutlich zu erscheinen. Ich behandelte mit Kalilauge isolierte Körner mit 13proz. Schwefelsäure; nach 24 Stunden im Wärmeschrank bei 40° waren sie ungelöst und unverändert. Körner, welche ich vorher, wie oben angegeben, mit Kalilauge isoliert und mit Jodjodkalium deutlich gefärbt, dann mit 50proz. Schwefelsäure behandelte, entfärbten sich, blieben aber sonst unverändert. Ich behandelte die Körner wieder mit Jodjodkalium, wobei sofort die typische rötlich-braune Färbung auftrat. Behandelt man nun vorsichtig mit 50proz. H_2SO_4, so daß dieselbe im Wasser allmählich herantritt, so wird die Jodfärbung viel intensiver, tief dunkelbraun, aber weder blau noch violett. Trat die Schwefelsäure schließlich in voller 50proz. Konzentration zu den Körnchen, so verblaßte die Farbe, die Körner blieben aber unverändert. In 86proz. Schwefelsäure quellen die Körner auf und lösen sich sofort. — Wurden die Schnitte, die wie vorher beschrieben hergestellt waren, mit filtriertem Speichel behandelt, so kann man unter dem Mikroskop verfolgen, wie sich die Inhaltskörner der einzelnen Chromidialsubstanzkugeln auflösen. Ich konnte deutlich das Kleinerwerden und schließliche Verschwinden der Körnchen in 4, längstens 8 Minuten beobachten. Mit Jodjodkalium färbten sich nun nur noch Plasma, Kerne und Wabenwände der Chromidialsubstanz matt gelblich, von den Inhaltsgebilden war keine Spur mehr nachzuweisen. Bei Behandlung mit Kalilauge löste sich jetzt alles auf. Derartige, mit Speichel behandelte Präparate färbte ich nun nachträglich mit Safranin, Gentianaviolett, Orange, und fand das ganze Präparat wie sonst. In den Wabenwänden haben sich die in das achromatische Stroma eingelagerten Körnchen deutlich rot gefärbt, der Wabeninhalt aber blieb absolut ungefärbt. Die Inhaltskörner waren also gänzlich verschwunden.

Die im Wabeninhalt der Chromidialsubstanz auftretenden Körner müssen, wie ihre Löslichkeit durch Speichelferment, ihre Jodfärbung und ihre Widerstandsfähigkeit bei anderen Reaktionen beweist, aus einem kolloidalen Kohlehydrat bestehen. Isoliert zeigen sie ja auch dieselbe Form wie stärkeartige Kohlehydrate. — Speichel löst Stärke und Glykogene. Daß wir eine amyloseartige Substanz vor uns haben, wird durch die Jodreaktion ausgeschlossen, wahrscheinlich handelt es sich hier um einen glykogenartigen Körper. Welcher Natur er ist, läßt sich nicht bestimmt angeben. Seine Reaktionen ähneln am meisten denen, welche Bütschli (1885) für die sogenannten Paraglykogenkörner (Zooamylum, Maupas) von Clepsidrina blattarum beschrieb. Doch zeigen sich in einzelnen Punkten Unterschiede. Die Paraglykogenkörner von Clepsi-

drina blattarum färben sich mit Jod braunrot bis braunviolett, jedenfalls röthlicher als die Kohlehydratkörner der Chromidialsubstanz. Besonders bemerkenswert ist aber, daß jene bei Schwefelsäurezusatz unter Aufquellen weinrot bis veilchenblau werden, während die Kohlehydratkörner der Chromidialsubstanz durch Schwefelsäure erst brauner und dann entfärbt werden, aber weder Rötung noch Violettfärbung zeigen. Bütschli deutete die Paraglykogenkörner der Gregarinen als Reservenahrung. Bei den Difflugien spielen die Kohlehydratkörner dieselbe Rolle, wie wir später finden werden. In der wässerigen Lösung der Paraglykogenkörner konnte Bütschli nach Kochen mit konzentrierter Salzsäure oder Schwefelsäure Zuckerreaktion nachweisen. Bei den Difflugien mußte ich auf den Versuch des eventuellen Zuckernachweises in der Lösung verzichten, weil es unmöglich ist, bei den mit allerlei Nahrung vollgepfropften Difflugien eine genügende Menge von Chromidialsubstanz zu isolieren. Bütschli (1903) weist neuerdings auf die Ähnlichkeit der Paraglykogenkörner von Clepsidrina blattarum mit Klebreisstärkekörnern und den sogenannten Florideenstärkekörnern hin. Vielleicht sind auch die Kohlehydratkörner der Chromidialsubstanz der Difflugien ähnlicher Natur, und wäre dann auch für sie die Bezeichnung Zooamylum zutreffender als Paraglykogen. Die schwache Doppelbrechung und ihre Braunfärbung mit Jod weisen darauf hin; auch in der Klebreisstärke findet sich ein mit Jod braunfärbender Körper. Sicher konnte ich jedoch der vorher erwähnten Schwierigkeit wegen nicht feststellen, ob es sich um eine Glykogenart oder etwa um Klebreisstärke handelt.

Ich muß mich also damit begnügen, zu konstatieren, daß die Kohlehydratkörner im Herbst in der Chromidialsubstanz auftreten und zwar in jeder Wabe ein Korn. Die Substanz der Körner ist unlöslich in Pepsin, Trypsin, 2 proz. Kalilauge, Alkohol, Äther, mit 50proz. Schwefelsäure bei 40° unveränderlich, also damit nicht in Zucker überzuführen. In der festen Form, wie sie im Tierkörper vorhanden, färbt sich die Substanz mit Jodjodkalium rötlich-braun. Die Farbe verschwindet beim Erhitzen, kehrt beim Erkalten wieder und wird bei Behandlung mit ca. 25proz. Schwefelsäure sehr tief braun; von 50proz. Schwefelsäure wird sie entfärbt. Von Speichel wird sie rasch gelöst.

Es gelang mir nicht, in den unregelmäßigen Vakuolen der viel kompakteren Chromidialsubstanz der Frühlingstiere solche Inhaltskörner nachzuweisen. Sie sind offenbar dort noch nicht vorhanden und treten erst im Wabeninhalt der, wie geschildert wurde, deutlich

alveolären Bau zeigenden Chromidialsubstanz der Herbsttiere auf. Daß sie aus Stoffen gebildet werden, die in der Vakuolenflüssigkeit gelöst sind, ist wahrscheinlich. Woher die gelösten Stoffe stammen, läßt sich vorerst nicht sagen.

Die Gerüstsubstanz der Chromidialsubstanz besteht, wie die Verdauungsversuche ergaben, zum Teil aus eiweißartigen Bestandteilen, wie ihr deutliches Blässerwerden bei der Behandlung mit Pepsin ergab. Trypsin löst Eiweißkörper und Nukleine. Dieselben werden auch von alkalischen Lösungen, z. B. schwacher Kalilauge, gelöst. Also auch Nukleine müssen wir in den stark färbbaren Wabenwänden der Chromidialsubstanz und in den Kernen als vorhanden bezeichnen, da sowohl in 1 proz. Kalilauge als auch in Trypsin die Gerüstsubstanz und die Kerne aufgelöst wurden. Da ich das Vorhandensein von Nukleinen in der Chromidialsubstanz sowohl wie in den Kernen durch diese Verdauungsversuche wahrscheinlich gemacht habe, und da man gewöhnlich Nukleine und Chromatin identifiziert, glaube ich von diesen stark färbbaren Stoffen im Chromidialsubstanzgerüst und Kernen künftig als von Chromatin sprechen zu dürfen.

D. Verschmelzungserscheinungen.

1. Plastogamie und Absterbeerscheinungen.

Plastogamie ist meist zwischen zwei, manchmal drei Difflugien vom Frühjahr bis Spätherbst zu beobachten; einmal fand ich sogar vier plastogamisch verbundene Individuen. Tiere, von oft ganz verschiedener Schalengröße, legen sich mit den Schalenöffnungen aufeinander und ihr Plasma verschmilzt miteinander. Gewöhnlich werden nach kurzer Zeit zwischen den Mündungen Pseudopodien ausgestreckt, die auffallend lang sind und lebhaft bewegt werden. Die Zeitdauer der Vereinigung schwankt. Manchmal bleiben die Tiere nur 2 Stunden beisammen, andere wieder sind 2—3 Tage verbunden; ausnahmsweise bleiben Tiere sogar 8—14 Tage beisammen, doch scheint mir das pathologisch. Trennte ich plastogamische Tiere künstlich, so konnte ich nach ungefähr 2 Stunden häufig sehen, daß sie sich wieder vereinigt hatten. Doch war dies bei elf Paaren nur in fünf Fällen geschehen, die anderen vereinigten sich nicht wieder. Künstlich nahe zusammengebrachte Difflugien konnte ich nie zur Vereinigung bringen.

Es fällt auf, daß man in reichen, gut gedeihenden Kulturen selten plastogamisch verbundene Difflugien findet; häufig nur 1 Proz. In Kulturgläsern hingegen, in denen die Difflugien spärlich waren und in denen sie später aus mir unbekannten Gründen ganz aus-

starben, konnte ich plastogamisch verbundene Difflugien häufiger finden. Einmal waren aus einer solchen Kultur von 26 Difflugien 4 Paare plastogamisch verbunden. Isolierte ich Difflugien mit Wasser aus den Kulturen in Uhrschalen, in denen viele sehr dicht beieinander lagen, und tat Algen und Diatomeen dazu, so konnte ich dagegen sicher sein, schon nach 8—12 Stunden von 50 Difflugien 8 bis 15 Paare in Plastogamie zu finden. Die einzeln gebliebenen fand ich dann oft mit den Schalenmündungen an Algen oder auch an die Schalen anderer Difflugien gepreßt. Offenbar verbinden sich also die Tiere plastogamisch, wenn sie sich unter Verhältnissen befinden, welche ihren natürlichen Lebensbedingungen nicht entsprechen. Auch scheint die Temperatur Einfluß zu haben. An sehr warmen Sommertagen traten Plastogamien auch in kräftigeren Kulturen häufiger auf.

In Kulturen, welche ich für andere Versuche in den Keller und dann auf Eis brachte, zogen sich die Difflugien ganz in ihre Schalen zurück und zeigten keinerlei Pseudopodienbewegung. Brachte ich nun diese Kulturen wieder in Zimmertemperatur, so zeigten sich nach kurzer Zeit viele plastogamisch verbundene Paare. Isolierte Paare zeigten nach kurzer Zeit lebhafte Pseudopodienbewegung. Auch nachdem sie sich wieder getrennt hatten, war die Pseudopodienbewegung auffallend lebhaft, lebhafter, wie mir es schien, als bei solchen Difflugien, die vorher nicht plastogamisch verbunden waren.

Auf Schnitten (Taf. X Fig. 12) zeigen solch plastogamisch verbundene Tiere Verschmelzung ihres sehr feinwabigen Plasmas. Kerne und Chromidialsubstanz bleiben völlig unverändert im Fundus der Schalen. Auch an Tieren, die plastogamisch verbunden, sich hierauf getrennt hatten und kurz nach ihrer Trennung konserviert und geschnitten wurden, konnte ich keine Veränderung an Kernen und Chromidialsubstanz entdecken. Dasselbe negative Resultat hatte die Untersuchung von Tieren, die ein und zwei Tage nach ihrer Trennung konserviert worden waren.

Wir fanden, daß solche Tiere sich besonders häufig plastogamisch verbinden, die unter ungünstigen Bedingungen leben. Viele Tiere bewegten sich nach der Plastogamie lebhafter und zeigten sich vollständig lebensfähig. An anderen Tieren jedoch konnte ich dann häufig eigentümliche Absterbeerscheinungen beobachten. Es hatten sich am 15. Oktober zwei Difflugien plastogamisch verbunden, welche ich isolierte. Sie blieben bis zum 1. November verbunden und streckten nur im Anfang häufig Pseudopodien aus. Nachdem sie sich getrennt hatten, begann das eine Tier ein großes, lappenförmiges

Digitized by Google

Pseudopodium auszustrecken, ganz so, wie es Verworn bei Beginn der Teilung von Difflugia urceolata schildert. Das zuerst hyaline Pseudopod wurde länger, breiter und zeigte im Innern deutlich körniges Entoplasma. Schließlich quoll der ganze Inhalt der Schale heraus und der Weichkörper kroch träge, amöbenähnlich am Boden der Uhrschale herum. Die Bewegungen waren langsam. Ich glaubte es zuerst mit einem Teilungs- oder Häutungsprozeß des Tieres zu tun zu haben. Nach 24 Stunden quoll das Plasma jedoch durch starke Wasseraufnahme auf, bis es $^1/_2$ mal größer war als die verlassene Schale. Die Oberfläche war klebrig, denn feine Glassplitter blieben daran haften. Schließlich begann das Tier ganz zu zerfallen. — Zwei andere Tiere verbanden sich plastogamisch, als sie aus dem Freien am 3. Dezember in die warme Stube gebracht wurden. Sie blieben so 24 Stunden verbunden. Dann trennten sie sich und begannen nach weiteren 24 Stunden, wie oben geschildert, aus ihren Schalen zu fließen. — Ein anderes Paar blieb verbunden; aus einem Spalt zwischen beiden Schalen floß das gemeinsame Plasma aus, bewegte sich amöboid und zeigte dann die beschriebenen Absterbeerscheinungen. Dieses Absterben mit Ausfließen aus der Schale habe ich noch häufig, besonders an lange isolierten und auch an zu warm gehaltenen Tieren, ohne vorhergegangene Plastogamie, beobachtet. Schnitte solcher durch Wasseraufnahme stark aufgequollener, ausgeflossener Weichkörper zeigten das Plasma grob und unregelmäßig vakuolisiert. Beim Beginn des Aufquellens und Ausfließens bleiben die Kerne unverändert. Merkwürdig erscheint jedoch die Chromidialsubstanz, die sich fast sternförmig um die Kerne anlegt (Taf. XI Fig. 3). Ähnliche Kernbilder erhielt ich bei Difflugien, die ich hungern ließ.

Den geschilderten eigentümlichen Absterbeprozeß beobachtete ich sehr häufig in verschiedenen Jahreszeiten. Jedesmal kroch der Weichkörper der Difflugien erst länger oder kürzer amöboid umher und zerfiel schließlich. Rhumbler (1891) beschrieb einen ganz ähnlichen Vorgang von Arcella, welche er isoliert hielt. Das Wasser war stark bakterienhaltig geworden und der Arcellenweichkörper floß aus der Schale hervor und träge amöboid am Grunde der Uhrschale umher. Er verlor das Tier später aus den Augen. Rhumbler scheint es nicht für ausgeschlossen zu halten, daß dieser Prozeß mit der Entwicklung von Arcella in Verbindung steht. Ich vermute jedoch, daß es sich hier um eine ähnliche Absterbeerscheinung handelte wie bei den Difflugien, und daß solche Erscheinungen vielleicht öfter zu der Annahme von Häutungsprozessen Anlaß gegeben haben

Ich möchte noch kurz auf die Absterbeerscheinungen bei lebensfähigen und dann zerquetschten Difflugien aufmerksam machen. Zerdrückt man Difflugien, so zeigt das fein alveoläre Plasma noch einige Zeit amöboide Bewegungen. Hyaline und kernfreie Plasmapartien wölben sich vor und schnüren sich ab. Diese kugeligen Plasmagebilde zeigen dann noch einige Zeit amöboide Bewegungen und deutliche Plasmaströmung. Hierauf zerfallen sie, ohne vorher Quellungserscheinungen wie die oben geschilderten zu zeigen.

2. Kopulation.

Dieser Vorgang beginnt wie die Plastogamie, nimmt aber einen ganz anderen Verlauf. Zwei Difflugien legen sich mit ihren Schalenöffnungen aneinander und verschmelzen. Die Schalen beider Individuen sind meist etwa gleich groß und mit Weichkörper etwa halb gefüllt. Die Tiere strecken keine Pseudopodien aus. Hierauf beginnt das eine Tier in das andere überzufließen (Taf. X Fig. 10). Manchmal ist dieser Vorgang schon nach einer Stunde beendet. Andere Paare liegen erst länger, oft einen Tag lang, plastogamisch verbunden beisammen und erst dann beginnt das eine Individuum in das andere überzufließen. Wenn die eine Schale fast ganz gefüllt und die andere fast leer geworden ist, werden dort, wo die beiden Schalenöffnungen aneinander liegen, viele lange, lebhaft bewegliche Pseudopodien hervorgestreckt, und so wird die leere Schale abgestoßen. Meist sind dann nur hyaline Pseudopodien zu sehen; es kommt aber auch vor, daß noch ein breiter Lappen körnigen, inhaltreichen Plasmas aus der Schale hervorsieht, dem erst außen das stets hyaline Plasma anliegt, welches die Pseudopodien bildet. Nach und nach wird nun auch die Masse des körnigen Entoplasmas eingezogen und es schauen nur noch die sich lebhaft bewegenden Pseudopodien hervor. Diesen Vorgang habe ich an lebenden Difflugien sehr oft verfolgt, sowohl an Tieren, die ich schon verbunden aus der Kultur holte, als auch an solchen, welche ich längere Zeit mit einer gezählten Anzahl anderer isoliert gehalten hatte, so daß eine etwaige Verwechslung dieser Kopulation mit einer Teilung, wie Blochmann (1887) einen von Jickeli beobachteten ähnlichen Vorgang deutet, ausgeschlossen ist. Auf Schnitten erkennt man schon auf den Anfangsstadien den großen Unterschied der Plastogamie und Kopulation, wie ich diesen Vorgang wohl nennen muß. Wie oben geschildert, bleiben bei plastogamischen Tieren Kerne und Chromidialsubstanz in ihrer gewöhnlichen Lage in beiden Individuen liegen. Bei der Kopulation ist dies nur bei dem einen Tiere der Fall (Taf. X Fig. 10, 11).

Digitized by Google

Im anderen, dem überfließenden, erkennt man deutlich, wie die Chromidialsubstanz durch lebhafte Strömung in viele kleine Kugeln und Klumpen auseinander gerissen ist (Taf. X Fig. 10) und im ganzen Plasma umher liegt. Die Kerne liegen dazwischen, ebenso die Nahrungskörper und Vakuolen. Die Anordnung des Weichkörpers in Zonen ist verschwunden. Ebenso wie bei Individuen, die sich plastogamisch verbinden, kann auch bei kopulierenden die Kernzahl der beiden Tiere eine verschiedene sein. So wurden im November Kopulationen beobachtet, von denen ein Tier 10, das andere 13 Kerne hatte. Bei einem anderen Paare wiesen beide Individuen 18 Kerne auf. Bei einem dritten schließlich war die Kernzahl 8 und 10. Es fließt nun zuerst das Plasma mit der in viele kleine Brocken verteilten Chromidialsubstanz und den Kernen in das andere Tier über. Es folgt dann das Plasma, das die sonstigen Inhaltsgebilde enthält, und schließlich ein Lappen von deutlich alveolärem Plasma, wohl dasselbe, das hierauf die Pseudopodien bildet (Taf. X Fig. 11). Die übergetretene Chromidialsubstanz verschmilzt mit der des ruhig gebliebenen Tieres vollständig; die Kerne lagern sich in den Fundus der Schale. Wir finden nun wieder die Anordnung in Zonen wie bei allen gewöhnlichen Difflugien. Die eine Schale ist ganz leer geworden; ich konnte nirgends irgendwelche ausgestoßene Bestandteile darin finden. Die andere Schale ist dagegen ganz voll Plasma. Konserviert man solche Tiere kurz nach dem Zusammenfließen, so kann man es den Präparaten nicht ansehen, daß man ein Tier vor sich hat, das aus zwei verschmolzenen hervorgegangen ist, nur sind die Schalen ganz gefüllt. Die Chromidialsubstanz dagegen zeigt dieselbe Beschaffenheit wie bei Einzeltieren. Kernverschmelzungen habe ich nie finden können, obgleich ich viele solche Präparate in den verschiedensten Stadien des Zusammenfließens sorgfältig durchmusterte. Nach der Kopulation füllt die Chromidialsubstanz, welche schon die vorher bei Herbsttieren beschriebenen Veränderungen durchgemacht hat, oft den halben, häufig sogar $^3/_4$ des Weichkörpers der Tiere aus. Auch enthalten solche aus Kopulation hervorgegangenen Tiere natürlich sehr viele Kerne.

Die Kopulation ist besonders häufig vom September ab; doch habe ich auch im Juni drei Kopulationen beobachtet. Es gelang mir nicht, festzustellen, was aus diesen frühzeitig kopulierenden Tieren wird. Ein Paar, das ich isolierte, starb ab, zwei Paare konservierte ich, in der Hoffnung, neue zu finden, und weil ich mir über die feineren Vorgänge Klarheit verschaffen wollte. Ich kannte damals die häufigen Kopulationen der Herbsttiere noch nicht.

Digitized by Google

3. Konjugation.

Am 15. Juli fand ich drei Individuen, die anscheinend plastogamisch verbunden waren. Leider konservierte ich diese drei zusammenhängenden Tiere. Am Präparat erst sah ich, daß es sich hier nicht um Plastogamie, sondern um Kopulation oder Konjugation handelte. Die Chromidialsubstanz ist in viele Brocken zerfallen (Taf. XI Fig. 1). Auch die Kerne sind nicht mehr in ihrer ursprünglichen Lage, und zwar ist dies im Gegensatz zu der Kopulation bei allen drei Tieren der Fall. Im Plasma liegen verschieden große Kugeln, welche sich mit Blen-de-Lyon gefärbt haben, aber auch einen matten Ton von dem Kernfarbstoff (es wurde Safranin angewendet) zeigen. Über ihre Bedeutung vermag ich nichts zu sagen; mit der Chromidialsubstanz stehen sie nicht in Verbindung. Vakuolen, Nahrungsvakuolen und Nahrungsreste sind hier wie bei allen anderen verbundenen Tieren vorhanden. Die Kerne zeigen eine auffallend dünne Kernmembran bei Vergleich mit Kernen normaler Difflugien. An einzelnen Stellen der Kernoberfläche scheint die Membran sogar ganz geschwunden (Taf. XI Fig. 1 b, c, d, e). An solchen Stellen bemerkt man deutlich, daß gut gefärbte Binnenkörper aus dem Kerne austreten (Taf. XI Fig. 1 b, d *bk 1*). Auf Figur 1 e sind zwei Binnenkörper, *bk 1* und *bk 2*, bereits aus dem Kerne ausgetreten. Einzelne der Binnenkörper sind hier verhältnismäßig groß; sie sind vermutlich aus mehreren kleinen zusammengeflossen. Gewöhnlich liegen Chromidialsubstanzbrocken solchen Kernen dicht an (Fig. 1 b, c, d, e *chrs*), doch ist dies nicht immer der Fall. Jedenfalls liegt die Vermutung nahe, daß hier eine innigere Beziehung von Kernen und Chromidialsubstanz (Taf. XI Fig. 1 b, c, e *chrs*) zu suchen ist. Die Chromidialsubstanz zeigt den typischen, unregelmäßig vakuolisierten Bau der Frühlingstiere, auch sind Kohlehydratkörnchen in ihr nirgend vorhanden. Die Grundsubstanz der Chromidialsubstanz ist massig und läßt keinerlei feineren Bau erkennen. Durch die Strömung zieht sie sich oft in Fäden und Brücken aus (Taf. XI Fig. 1 a). Dies deutet wieder auf ihre zähflüssige Konsistenz hin. Leider fand ich keine Exemplare wieder, die ähnliche Verhältnisse zeigten. Alle anderen erwiesen sich nur als drei plastogamisch verbundene Individuen. — Daß es sich in dem obigen Fall nur um Plastogamie handelte, scheint ausgeschlossen, wenn man diese Tiere mit anderen Plastogamien vergleicht. Daß es sich um Kopulation handelt, glaube ich auch nicht. Bei allen anderen Kopulationen blieb ein Individuum in Ruhe und nahm das andere überfließende in seinen

Plasmaleib auf, um vollständig mit ihm zu verschmelzen. Ebenso war ein Knospungs- oder Teilungsprozeß ausgeschlossen, denn die drei Exemplare hatten sich unter einer Anzahl isolierter und gezählter Tiere miteinander verbunden. Auch war die Färbung aller drei Schalen fast gleich dunkel; ein Tier war nur etwas größer als die beiden anderen. Alle drei Individuen sind, wie aus Taf. XI Fig. 1 hervorgeht, in lebhafter Umwälzung ihres Plasmainhaltes begriffen. Alle drei aber sind vom Plasma gleichmäßig erfüllt, so daß man nicht den Eindruck erhält, als ob ein oder zwei in ein anderes überfließen wollten. Bei allen übrigen Kopulationen, welche ich beobachtete, war dagegen das Überfließen des einen Tieres in das andere bereits bei Beginn des Prozesses deutlich zu erkennen, während Chromidialsubstanz und Kerne ebenso starke Verlagerungen zeigen, wie an diesen Exemplaren. Ich vermute vielmehr, daß es sich hier um ein Art Konjugationsvorgang handelt, der auf einen Austauch der Kerne, resp. der Chromidialsubstanz abzielt.

E. Vorbereitungen zur Encystierung.

Bei den Herbsttieren ist die häufige Kopulation wohl sicher in Zusammenhang mit der später zu schildernden Encystierung zu bringen. Das Hauptgewicht scheint auf die Verschmelzung der Chromidialsubstanz zu legen zu sein. Ich möchte in dieser Hinsicht betonen, daß ich im September, Oktober und auch noch vereinzelt anfangs November häufig Kopulationen beobachtet habe, ferner daß jetzt die Schalen der meisten Individuen ganz von Plasma erfüllt sind. Im Weichkörper war der größte Teil von Chromidialsubstanz erfüllt, und häufig fand sich eine erstaunliche Anzahl von Kernen; bis zu 40 konnte ich zählen. Außerdem ließen sich Kernveränderungen auf Schnitten häufig nachweisen. Ob alle Tiere, welche ich in der angegebenen Zeit konservierte, und die die nachstehend zu schildernden Kernveränderungen zeigen, wirklich aus zwei kopulierten hervorgegangen sind, kann ich nur mutmaßen, aber nicht behaupten. Jedenfalls zeigten sowohl drei kopulierende Paare als auch vier Difflugien, welche aus der Kopulation hervorgegangen waren und deren Zusammenfließen ich beobachtet habe, die große Masse von Chromidialsubstanz und Kernen und an einzelnen dieser Kerne Veränderungen, welche für die Weiterentwicklung der Tiere von Wichtigkeit zu sein scheinen.

a) Kernveränderungen.

Im Oktober und anfangs November zeigten sich in sehr vielen Präparaten der frisch aus der Kultur genommenen Tiere Kernver-

änderungen. Das Charakteristische derselben ist, daß die chromatischen Binnenkörper aus dem Kerne austreten. Die Wege, auf denen dies erreicht wird, sind verschieden.

Man sieht oft, daß an einer Stelle der Kernperipherie die doppelt konturierte Kernmembran deutlich verdünnt oder nicht mehr nachweisbar ist. Die Alveolen des Kerngerüstes stoßen demnach hier direkt an die des Plasmas. An solchen Stellen sieht man nun einen oder mehrere Binnenkörper des Kernes liegen. Wie Taf. XI Fig. 5c Kern 2 zeigt, liegt hier ein Binnenkörper (*bk 1*) halb im Plasma, ein anderer (*bk 2*) hart an der Grenze von Plasma und Kern (siehe auch Fig. 5c Kern 1 [*bk 1*]). Bei anderen Kernen (Taf. XI Fig. 5f) liegt ein Binnenkörper (*bk 1*) außerhalb des Kernes, nahe an der Stelle, an der die Membran geschwunden ist; ein zweiter (*bk 2*) liegt auf der Grenze von Kern und Plasma; Fig. 5b Kern 1 zeigt zwei Binnenkörpor (*bk 2*) ins Plasma ausgestoßen, und Kern 2 einen solchen (*bk 1*), der im Begriff ist auszutreten. Dasselbe ist bei Taf. XI Fig. 5g der Fall; die Kernmembran (*km 1*) hat sich verdünnt und ein Binnenkörper (*bk 1*) ist dort ausgestoßen, ein zweiter (*bk 2*) liegt auf der Grenze von Kern und Plasma. Von dem mit *chr* bezeichneten Chromatinbrocken kann man nicht mit Sicherheit sagen, ob er aus dem Kern stammt oder aus der Chromidialsubstanz. Solche Bilder sind häufig (Fig. 5b Kern 1 u. 2 *chr*, Fig. 1c *chr*, Fig. 2 *chr*). An manchen Kernen verdünnt sich die Kernmembran an mehreren Stellen gleichzeitig, und man kann an solchen Präparaten viele Übergänge des Auswanderns des Chromatins beobachten (Taf. XI Fig. 5d *km 1* und *km 2*, und Fig. 5b Kern 1 *km 1* u. *km 2*, und Fig. 5f *km 1* u. *km 2*). An anderen Kernen sieht man statt der sonst so zahlreichen Binnenkörper nur noch zwei (Taf. XI Fig. 5h) oder einen (Taf. XI Fig. 5i). Die Membran hat sich an diesen Kernen deutlich verdünnt und ist streckenweise verschwunden. Offenbar ist das meiste Chromatin hier in das Plasma ausgestoßen worden.

An anderen Kernen bleibt die Kernmembran ganz erhalten. An einzelnen Stellen färbt sich aber die sonst stets mit Plasmafarbstoffen typisch gefärbte Membran nun mit dem Kernfarbstoff, welcher stets die Binnenkörper färbte (Taf. XI Fig. 4a u. c *chr*). Die Kernmembran muß also an diesen Stellen chromatische Substanz, ähnlich der der Binnenkörper enthalten. Möglicherweise handelt es sich um ein durch die Membran Hindurchwandern der flüssigen Binnenkörper. Wahrscheinlicher scheint es jedoch, daß die Kernmembran zähflüssig ist und den wohl ebenfalls zähflüssigen Binnenkörpern den Durchtritt gestattet. Dort, wo die Membran Chromatinfärbung zeigt, ist ver-

mutlich ein Binnenkörper im Begriff die Membran zu durchwandern. — Übergänge dieses Prozesses zeigt das Präparat, das in Taf. XI Fig. 4a wiedergegeben ist. In einem der beiden Kerne (rechts) sieht man bereits deutlich die in die Membran eingelagerte chromatische Substanz (*chr*). An dem linken Kern hat man dagegen vollständig den Eindruck, als ob der hart an der Membran liegende Binnenkörper (*bk*) im Begriffe wäre, sich der Membran anzufügen, um hindurchzutreten. Es wurde früher hervorgehoben, daß bei normalen Kernen die Binnenkörper sich mehr in der zentralen Region des Kernes befinden. — Nicht immer ist nur eine Stelle der Membran chromatinhaltig. Wie man auf Taf. XI Fig. 4b erkennt, treten auch manchmal mehrere kleine Chromatinkugeln (*bk*) gleichzeitig in die Membran ein. Beide Modi des Chromatinaustrittes finden sich in demselben Individuum, ja sogar in demselben Kern, wie Taf. XI Fig. 5e zeigt. Dort ist bei *chr* Chromatin in der Membran selbst, während bei *km 1* die Membran eine Strecke weit verdünnt ist; an dieser Stelle wird wohl der Binnenkörper (*bk*) auswandern. Auch zeigen nicht alle Kerne gleichzeitig die Kernveränderungen. Während einige schon fast von Chromatin leer sind und andere im Begriffe stehen, sich des Chromatins zu entledigen, findet man im selben Tier auch ganz normale unveränderte Kerne mit dicker Membran (Taf. XI Fig. 6).

Man bemerkt (Taf. XI Fig. 6), daß in dem Kern mit dicker Membran sehr viel chromatische Substanz, dagegen in dem Kern Taf. XI Fig. 4d mit unverdünnter Membran nur noch ein Kügelchen vorhanden ist; offenbar sind die meisten Binnenkörper hier auf die oben geschilderte Weise aus dem Kern ausgetreten. Taf XI Fig. 4e zeigt einen Kern ganz ohne Binnenkörper. An demselben ist die Membran noch erhalten; vermutlich sind hier alle Binnenkörper durch die Membran ausgetreten. Der Kern ist stark geschrumpft. Solche Bilder sind selten und schwer nachweisbar, aber unzweifelhaft vorhanden. Wenn die chromatische Substanz ausgetreten ist, geht der Kernrest vermutlich schnell zugrunde. Daß es sich bei solchen leeren Kernen nicht bloß um Kernanschnitte handelte, die etwa auf dem nächsten Schnitte noch Chromatin enthalten, wurde selbstverständlich festgestellt. Chromatinleere Kerne mit verdünnter Kernmembran fand ich nicht; dieselben heben sich wohl nicht genügend vom Protoplasma ab.

Die aus den Kernen ausgetretenen Chromatinkörper konnte ich stets nur in der Nähe des Kernes nachweisen, offenbar kurz nach ihrem Austritt (Fig. 5b, linker Kern *bk 2* und Fig. 5f *bk 1*). Da

aber aus den zahlreichen Kernen viel Chromatin austritt, so drängt sich natürlich die Frage nach dem Verbleib dieser im Anfang so deutlich nachweisbaren Gebilde auf. Nun zeigen sich häufig Bilder, in denen die Chromidialsubstanz dicht an den Kernen, häufig sogar direkt den verdünnten Stellen der Kernmembran anliegt (Taf. XI Fig. 5a, d, e *chrs*). Kernbinnenkörper und die färbbaren feinen Körnchen des Chromidialsubstanzgerüstes verhalten sich, wie wir schon früher sahen, gegen Farbstoffe und auch sonst chemisch gleich. Sollten diese Substanzen hier ineinander übergehen? Bilder, wie solche in Taf. XI Fig. 5a, machen dies wahrscheinlich. Es kommen jedoch auch Fälle vor, in denen Kerne, aus denen Chromatin austritt, frei im Plasma liegen (Taf. XI Fig. 5b Kern 2), oder die Chromidialsubstanz gerade den dicken und nicht den verdünnten Teilen der Kernmembran anliegt (Taf. XI Fig. 5f *chrs*), doch scheinen diese Fälle seltener. Jedenfalls beobachtete ich Chromatinklumpen, welche sicher aus dem Kerne stammen, und die auch die typische vakuolige Beschaffenheit der Binnenkörper zeigten, nur in der Nähe des Kernes und der Chromidialsubstanz. Frei im Plasma selbst fand ich keine.

Den Einwand, daß es sich hier etwa um Erscheinungen handelt, welche durch Konservierung und Färbung hervorgerufen werden, glaube ich dadurch widerlegen zu können, daß sich diese Bilder bei Konservierung mit Chromosmiumsäure, Pikrinsäure und Sublimatgemischen, bei Färbung mit Boraxkarmin, Bleu-de-Lyon, dem Flemming'schen Dreifarbengemisch, wie mit Safranin und Bleu-de-Lyon zeigten, und zwar nur bei Herbsttieren. Im Juni fand ich noch ähnliche Kernveränderungen bei den zwei Kopulationsexemplaren und den vermeintlichen drei Konjugationsdifflugien im Juli, sonst nirgends im Frühjahr und Sommer bei einzelnen Difflugien, von denen ich eine Menge Präparate besitze. Das etwaige Bedenken, daß die Chromatinkörper etwa beim Schneiden aus den Kernen herausgerissen wären, wird hinfällig, wenn man beachtet, daß im selben Tiere die Kerne nach den verschiedensten Richtungen ihr Chromatin ausscheiden. Wären diese Verhältnisse durch die Schnittführung entstanden, so müßten alle oder die meisten Chromatinbrocken desselben Schnittes nach einer Seite von den Kernen liegen, was nirgends der Fall ist. Auch liegen die Brocken deutlich im Plasma selbst.

b) Veränderungen im Weichkörper.

Die Kernauflösungen schreiten fort und die meisten Kerne zeigen die früher geschilderten Veränderungen, um sich ihres Chromatins

Digitized by Google

zu entledigen. Fettröpfchen im Plasma sind selten und kleiner als im Frühjahr. Die Chromidialsubstanzkügelchen mit ihren Kohlehydratinhaltskugeln verkleben alle miteinander zu einem zusammenhängenden Wabenwerk (Taf. XI Fig. 7). Die Chromidialmasse liegt zentral. Peripher, gewöhnlich an einer Stelle eine stärkere Ansammlung bildend, befindet sich ein mehr oder weniger breiter Plasmasaum. Eine Abgrenzung der Chromidialsubstanz vom Plasma durch eine Membran findet sich hier ebensowenig wie früher; auch zur Bildung eines Alveolarsaumes der wohl recht zähflüssigen Masse kommt es nicht, sondern die einzelnen Waben springen wie stets kugelig unregelmäßig ins Plasma vor (Taf. XI Fig. 7a *chrs*).

Solche Tiere stehen kurz vor ihrer Encystierung. Ehe diese eintritt, werden alle Fremdkörper und Nahrungsreste nach der Schalenöffnung hin befördert und ausgestoßen (Taf. XI Fig. 7). Bei dem abgebildeten Tiere, das sich zur Encystierung anschickt, war wieder eine jener früher geschilderten, achromatischen Spindeln vorhanden; in den Cysten selbst fand ich sie dagegen nie. Vermutlich sind es aufgeknäulte Bakterien, welche wie die Fremdkörper vor der Encystierung ausgestoßen werden. Auch ein kernloser, grob vakuolärer Teil des Plasmas scheint abgestoßen zu werden, doch ist dies nicht regelmäßig der Fall. Ich beobachtete es nur zweimal deutlich.

II. Encystierte Tiere.

Wenn das Tier sich zur Encystierung anschickt, zieht es zunächst alle Pseudopodien ein und kugelt sich in der Schale ab. Nahrungskörper, Reste, Exkrete sind ausgestoßen und auch viel Wasser wird abgegeben. Dadurch wird das Volumen des Tieres oft bis auf ein Viertel des ursprünglichen verringert. Das vorher deutlich alveolär gebaute Plasma erscheint nun fast homogen oder fein gekörnelt. Es ist viel dichter und stärker lichtbrechend als im unencystierten Tiere, und färbt sich viel stärker als in jenem. Das Plasma scheidet nun zunächst eine dünne, gallertige und kurz darauf eine zarte feste Cystenhülle ab.

Irgendeine Struktur ist in der festen Cystenhülle nicht wahrzunehmen. Mit Jod färbt sie sich gelb. Sie bleibt unverändert, wenn man sie mit 15 proz. Kalilauge erwärmt. Beim Kochen mit 15 proz. Kalilauge verschwindet sie dagegen. Auch in 50 proz. Schwefelsäure löst sie sich sofort. Sie ist also wohl eiweißartiger Natur.

Digitized by Google

Die Hülle ist sehr dünn; auf Schnitten erkennt man, daß sie nur etwa 1—1½ μ dick ist. Außen ist sie förmlich inkrustiert mit Algen und Diatomeenskeletten, welche größtenteils von der vor der Encystierung ausgestoßenen Nahrung herrühren. Diese Reste und allerhand Detritus sind miteinander verklebt und erhöhen wohl die Festigkeit der Cystenmembran.

A. Äußere Beschaffenheit der Cyste.

Ehe die Encystierung begann, sahen wir, daß der Weichkörper die Schalen ganz ausfüllte; die Cysten dagegen nehmen nur etwa ½—¼ des Schaleninnern ein. So war z. B. in einer 324 μ langen Difflugienschale der Cystendurchmesser nur 169 μ groß. Die Cysten liegen im Fundus der Schale (Textfig. I). Deckelbildungen vor den Cysten, wie sie für andere Difflugien geschildert werden, kommen bei Difflugia urceolata nicht vor. Die Cysten sind kugelig. Häufig ist die eine Hälfte ihrer Wand konkav eingesenkt, so daß Durchschnitte der Cysten in gewisser Richtung etwa halbmondförmig aussehen. Man findet dies ziemlich oft auf Schnitten. Es ist wohl möglich, daß dies von Schrumpfung bei der Konservierung herrührt. Auch an solchen Cysten sind aber trotzdem die feinsten Strukturen erhalten. Schneidet man die Cyste parallel zur eingesenkten Wand, so erhält man ringförmige Schnitte, welche natürlich in der Mitte ein Loch haben; das innere Loch ist hier ebenso wie der äußere Rand von der Cystenmembran gebildet. Schneidet man jedoch rechtwinkelig zur eingesenkten Wand, so erhält man, wie erwähnt, halbmondförmige Bilder (Taf. XII Fig. 7 u. 8).

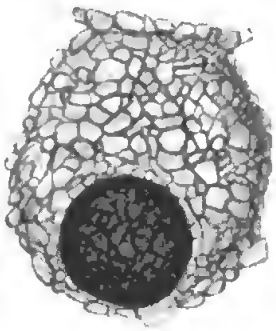


Fig. I.

B. Biologisches über die Encystierung.

Die Encystierung beginnt in den im Freien gehaltenen Kulturen Ende Oktober oder Anfang November. In solchen Kulturen sterben natürlich im Winter die Pflanzen ab. Bei leichtem Frost zeigten sich etwa 4 Proz. der Difflugien encystiert. Ende November waren ca. 50 Proz. encystiert. Ende Dezember etwa 95 Proz. Im Januar fand ich ganz vereinzelt unencystierte Difflugien, die den typischen Bau der früher geschilderten Herbsttiere mit kohlehydrathaltiger Chromidialsubstanz und zahlreichen Kernen zeigten. Die Kerne

Digitized by Google

dieser nuencystierten Tiere waren unverändert. Ausgangs Januar und im Februar fand ich keine unencystierten Tiere mehr. Ob die unencystierten Tiere sich nun noch encystiert hatten oder zugrunde gegangen waren, vermag ich nicht zu sagen. — Alle Tiere dagegen, welche ich von Ende November bis Mai frisch aus dem Grunewald erhielt, waren encystiert.

In Kulturen, welche ich bei Zimmertemperatur hielt, und in denen eine reiche Algen- und Diatomeenflora gedieh, und das Sphagnum grünte, trat die Encystierung etwas später, Ende November, aber auch hier regelmäßig ein. Bis Mitte Dezember war auch hier fast alles encystiert; ausgangs Januar fand ich keine unencystierten Tiere mehr. Die Pflanzen gediehen in diesen Kulturen den ganzen Winter über. Ich beobachtete den Eintritt der Encystierung in zwei Wintern an fünf meiner reichsten Kulturen, welche in der warmen Stube gehalten waren. Ein äußerer Grund für den Eintritt derselben war nicht zu entdecken.

Alle Versuche dagegen, im Sommer Tiere zur Encystierung zu bringen, mißlangen. Ich hielt Kulturen erst kühl im Keller und brachte sie dann langsam auf Eis. Die Tiere zogen sich in ihre Schalen zurück und zeigten keine Pseudopodienbewegung, encystierten sich aber nie. Setzte ich diese häufig wiederholten Versuche lange fort, so starben die Tiere ab, ohne jemals Encystierung zu zeigen. Brachte ich sie noch rechtzeitig wieder in ihre gewöhnliche Temperatur, so lebten sie weiter.

Tiere, die ich hungern ließ, zeigten ebenfalls nie Encystierung. Ließ ich sie zu lange hungern, so starben sie unter den früher erwähnten Aufquellungs- und Zerfließungserscheinungen ab. Tiere, welche durch langsames Verdunstenlassen ihres Kulturwassers zur Encystierung gebracht werden sollten, starben ebenfalls stets ab. Dasselbe geschah meist bei Tieren, die ich zu demselben Zweck in Wasser anderer Herkunft brachte: entweder starben sie, seltener lebten sie ruhig weiter, jedenfalls encystierten sie sich nie.

Nach all diesen Versuchen glaube ich behaupten zu können, daß die regelmäßig im Spätherbst auftretende Encystierung der Difflugia urceolata eine Erscheinung ist, welche aufs engste mit dem Entwicklungsgang dieser Art verknüpft ist und keine Schutz- oder Winterruhehülle darstellt.

Es encystieren sich die Tiere von Anfang November bis Anfang Januar und zwar Tiere, die in derselben Kultur leben, ungleichzeitig. Sobald die Encystierung eingetreten ist, machen die Cysten Veränderungen durch. Man kann es den Cysten von außen natür-

Digitized by Google

lich nicht ansehen, welche von ihnen z. B. Mitte Dezember sich gebildet haben und welche dies schon vor sechs Wochen taten. Deshalb konservierte ich regelmäßig, ca. alle drei Tage, eine größere Anzahl Cysten, die ich — was bei den kleinen spröden Gebilden recht mühsam ist — schneiden mußte. Denn an lebenden Cysten kann man wegen der undurchsichtigen Hüllen natürlich nichts sehen, ebensowenig an Totopräparaten. Auf den Schnitten findet man nun z. B. im Dezember allerhand Stadien nebeneinander; Tiere, die eben im Begriff sind, sich zu encystieren bis zu solchen, die dies vermutlich schon vor sechs Wochen getan haben. Man muß also versuchen, diese Stadien zu kombinieren. Die Anfangsstadien sind am leichtesten zu erkennen, denn sie müssen sich mit den sicher als eben erst encystiert erkannten Stadien, vom Beginn der Encystierungsperiode identifizieren lassen. Bei den späteren Stadien hat es die größten Schwierigkeiten, ihre Aufeinanderfolge zu bestimmen, da die Cysten sich ungleichmäßig weiter entwickeln. Manche Stadien findet man lange und regelmäßig, andere wieder selten. Die Tiere verharren also offenbar in manchen Zuständen längere, in anderen kürzere Zeit, doch scheint dies auch bei den einzelnen Tieren zu wechseln. Tiere, die jung encystiert, zusammen isoliert und in bestimmten Zeiträumen zusammen konserviert wurden, zeigten demnach verschiedene Stadien der Entwicklung. — Einmal encystierten sich ausnahmsweise die meisten Tiere einer ziemlich reichen, im Freien gehaltenen Kultur fast gleichzeitig, und zwar schon am 24. bis 25. Oktober. Eine größere Menge Difflugien aus dieser Kultur, welche zufällig am 21. Oktober konserviert worden waren, zeigten alle die oben beschriebenen Kernveränderungen. Aber auch in dieser Kultur war die Entwicklung der Cysten eine ungleichartige und schon Mitte November konnte man die verschiedensten Stadien finden. Einzelne Stadien fand ich jedoch nur von Ende Februar bis April, so daß ich diese wohl mit Recht als Endstadien der Entwicklung auffassen muß.

C. Bau und Entwicklung des Cysteninhalts.

Ich will versuchen, eine Schilderung der Entwicklung zu geben, möchte aber nochmals betonen, daß der Zusammenhang der einzelnen Bilder, welche ich alle häufig fand und für die ich natürlich, soweit dies eben möglich, auch die chronologische Reihenfolge berücksichtigte, auf Kombination beruht, da die Beobachtung der Entwicklung am selben Objekt wegen der oben erwähnten Schwierigkeiten unmöglich erscheint.

Tiere, welche sich encystiert haben, sind also ganz frei von Fremdkörpern. Zentral liegt die hier ganz zusammenhängende Chromidialsubstanz als ein einheitlicher Klumpen (Taf. 12 Fig. 1 *chrs*). Ihr Bau ist der gleiche wie der unencystierter Difflugien im Herbst. Das chromatische Gerüst mit seinen reichlich eingelagerten Chromatinkörnchen bildet ein typisches Wabenwerk. Die Körnchen liegen hier häufig so dicht, daß die Wände fast als homogene Linien erscheinen. Nur an einzelnen Stellen nimmt man die achromatische Grundsubstanz wahr. In jeder Masche ist ein Kohlehydratkörnchen deutlich zu sehen (Taf. XII Fig. 9a). Bei Färbung mit Safranin, Gentianaviolett, Orange erscheint die Chromidialsubstanz bei schwachen Vergrößerungen violett, bei starken erkennt man, daß diese Farbe von dem stets rot gefärbten Gerüst und den blau gefärbten Kohlehydratkörnern herrührt. In den Knotenpunkten des Gerüstes zeigen sich stets Verdickungen. Die Chromidialsubstanz ist auf diesem Stadium natürlich ebenso wie bei den unencystierten Tieren dem Plasma eingelagert. Sind kleine Spalten oder Lücken zwischen ihr, so werden diese natürlich überall vom Plasma durchdrungen.

An der Oberfläche des Cysteninhalts findet man stets sehr kompaktes, stark färbbares, offenbar sehr wasserarmes Plasma, das feine Granulationen, aber nirgend alveolären Bau erkennen läßt. Dieses peripher liegende Plasma macht nun eine für die Difflugiencysten sehr charakteristische Umwandlung durch, welche schon sofort nach der Encystierung beobachtet wird. Es finden sich nämlich in dem Plasma zunächst eine geringere Anzahl kleinerer bis ziemlich ansehnlicher Kugeln, so daß man den Eindruck erhält, als wenn ein Teil des Plasmas sich zu diesen Kugeln differenziere. Wie dieser Prozess vor sich geht, ist mir nicht klar geworden. Jedenfalls sieht man auf vielen Schnitten, wie dies Fig. 1 u. 2 Taf. XII zeigen, daß im Plasma (*pl*) Kugeln (*pk*) auftreten, welche nur aus dem Plasma entstehen können. Schließlich findet man nur noch solche Kugeln, zwischen welchen sich kein weiteres Plasma mehr nachweisen läßt, so daß keine andere Annahme möglich ist, als daß sämtliches in die Bildung der Kugeln aufgegangen ist. Die Kugeln sind in lebenden Cysten deutlich konturiert, ziemlich stark lichtbrechend und opak. Bei Behandlung mit Jod und Jodjodkalium färben sie sich gelb, verdünnte Schwefelsäure und Speichel ergab keinerlei Veränderungen, von absolutem Alkohol und Äther werden sie nicht gelöst und schwärzen sich nicht mit Osmiumsäure. Sie verhalten sich auffallend widerstandsfähig gegen Pepsin und Trypsin: Behandlung mit diesen Flüssigkeiten durch 3 Tage bei 40° ließ die Kugeln wohl

blasser werden, jedoch lösten sie sich nicht. Das Plasma hat also eine Umwandlung erfahren.

Auf Schnitten erkennt man, daß eine Membran um die Plasmakugeln nirgend vorhanden ist. Sie scheinen sich peripher zu bilden, wenigstens liegen an der Peripherie die kleinsten und wohl jüngsten. Von Plasmafarbstoffen werden sie blaß gefärbt und zeigen oft kleine Granulationen, die sich gewöhnlich auch mit dem Plasmafarbstoff färben. Je weiter die Kugeln nach innen liegen, desto größer werden sie und dunkler gefärbt. Ihre Größe schwankt zwischen 9 und 14 μ. Die größeren färben sich mit Plasma- und Kernfarbstoffen häufig diffus (Taf. XII Fig. 1 u. 2). Vielleicht sind Substanzen, welche sich mit Kernfarbstoffen färben, nicht immer morphologisch individualisiert, sondern im Plasma gelöst vorhanden und bedingen die starke Färbung der großen Kugeln.

In den meisten der größeren Kugeln finden wir jedoch noch individualisierte Inhaltsgebilde. Außer den feinen plasmatischen Granulationen sind hier ungleich große Inhaltsgebilde vorhanden, welche sich mit dem Kernfarbstoff (es wurde meist Safranin und Eisenhämatoxylin angewendet) intensiv färben. Die Form dieser Inhaltsgebilde ist verschieden, sie werden bis ca. 2 μ groß. In den Inhaltsgebilden nimmt man öfters ein oder mehrere kleine Vakuolen wahr, wie dies auch bei den Binnenkörpern der Kerne der Fall war (Taf. XII Fig. 2 *pi*). Die Plasmakugeln bleiben stets membranlos und von ungleicher Grösse.

Von den alten Kernen finden wir auf diesen Stadien nur noch zwei bis fünf wieder. Ihre Membran ist sehr dünn und zeigt auf Schnitten Einbuchtungen. Die Kerne machen den Eindruck von Degeneration. Sie liegen oft mitten in der Chromidialsubstanz, ebenso oft aber auch im randlichen Plasma. Irgendeine Gesetzmäßigkeit in dieser Hinsicht läßt sich nicht feststellen. Oft sind ihre Binnenkörper noch stark färbbar, wie bei den unencystierten Tieren; andere Male wieder tingieren sie sich nur ganz schwach. Zerquetscht man lebende Cysten dieses Stadiums, so findet man die Kerne schwach lichtbrechend, viel schwächer als im unencystierten Tiere, aber stets kreisrund. Die meist unregelmäßige Kontur der Kerne an Präparaten beruht also wohl auf Schrumpfung der recht inhaltsarmen Kerne.

Woher die sich mit Kernfarbstoffen färbenden Inhaltsgebilde der Plasmakugeln stammen, läßt sich mit Sicherheit nicht sagen. Die Chromidialsubstanz bleibt während des Bildungsprozesses der Plasmakugeln unverändert. Wahrscheinlich ist es daher, daß das

Chromatin aus den alten, größtenteils aufgelösten Kernen stammt. Taf. XII Fig. 1 zeigt eine junge Cyste, in welcher zentral die noch unveränderte Chromidialsubstanz (*chrs*) liegt; peripher das Plasma, das in Kugelbildung (*pk*) begriffen ist. In diesem Tier lagen die Kerne (*k*) im Plasma. Im Plasma sieht man die Kugeln sich bilden, außerdem liegen chromatische Brocken (*chr*) in der Nähe der beiden degenerierenden Kerne im Plasma. Einzelne Plasmakugeln enthalten rote Inhaltsgebilde (*pi*). Hier hat es den Anschein, als ob die chromatischen Elemente des Plasmas aus den degenerierenden Kernen stammen und in die sich bildenden Kugeln aufgenommen werden; auf vielen anderen Präparaten schien es ebenso, ich konnte den Vorgang aber nicht sicher beobachten.

Die Kugelbildung des Plasmas schreitet fort und allmählich beginnen die Kugeln (*pk*) in das ganz zusammenhängende Chromidialnetz (*chrs*) einzuwandern (Taf. XII Fig. 2). Dabei verschmelzen häufig mehrere Plasmakugeln miteinander. Nach und nach durchsetzen sie das ganze Chromidialnetz. Durch dieses Einwandern der Plasmakugeln wird die Chromidialsubstanz völlig zerklüftet. Sie wird von Plasmakugeln ganz durchsetzt und Teile von ihr werden nach der Peripherie gedrängt (Taf. XII Fig. 2). Die Chromidialsubstanz kommt aber nie direkt mit der Cystenwand in Berührung. An Stellen, an denen die Cystenwand ein wenig abgerissen ist, oder anderweitig losgelöst, kann man stets wahrnehmen, daß sich ein ganz schmaler Plasmasaum rings um das ganze Tier zieht zwischen Cystenmembran und Chromidialsubstanz. Der Bau der Chromidialsubstanz ist unverändert und wie auf Taf. XII Fig. 9a.

Auf diesem Stadium verweilen die Cysten lange Zeit; die beschriebenen Bilder gehören zu den häufigsten.

Von den alten degenerierten Kernen sind meist noch drei oder vier vorhanden, welche sehr nahe beisammen liegen und vielerlei Einbuchtungen und Ausläufer zeigen. Ihre Membran ist sehr dünn oder fehlt auch, so daß die Kerne sich wenig scharf von ihrer Umgebung abgrenzen. Ihre Binnenkörper dagegen waren häufig deutlich gefärbt. — In anderen Cysten jedoch fand ich nur zwei Kerne und diese enthielten nur sehr schwach gefärbte Binnenkörper. Andere Cysten schließlich wiesen nur noch einen verschrumpften Kernrest auf. Auf einem Präparat war die Kernmembran deutlich eine Strecke weit aufgelöst. Der Kern lag mitten in der Chromidialsubstanz. Das Kerngerüst ging in das der Chromidialsubstanz über und entsendete seine stark tingierten Binnenkörper in dieselbe. Ein zweiter Kernrest war bereits ganz chromatinleer.

Digitized by Google

Behandelt man solche Stadien ebenso wie die vorhergegangenen frisch mit Osmiumsäure, so kann man gelegentlich kleine Fettkügelchen nachweisen, jedoch nicht viele. Mit Jod sind durch ihre Blaufärbung kleinste Stärkekörperchen nachweisbar; dieselben lösen sich schnell in 50proz. Schwefelsäure. Sie sind nicht immer zu erkennen, und nur, wie es mir schien, in sehr jungen Cysten vorhanden. Sie dienen wohl auch als Reservenahrung und werden mehr oder weniger schnell resorbiert.

Nachdem die Plasmakugeln durch die junge Cyste verteilt sind, beginnt auch die Chromidialsubstanz sich zu verändern. Wir fanden der achromatischen Grundsubstanz ihrer Wabenwände viele kleinste Chromatinkörnchen (*chr*) mehr oder weniger dicht eingelagert (Taf. XII Fig. 9a). Diese Körnchen (*chr*) beginnen jetzt zusammenzufließen; besonders in den Knotenpunkten treten sie als größere Kügelchen deutlich hervor (Taf. XII Fig. 9b *chr*). In den Wänden selbst bilden sie feinere oder gröbere Fädchen, welche als einheitliche Gebilde erscheinen. Wenn die Verschmelzung der Körnchen fortschreitet, so wird das Bild unregelmäßiger (Taf. XII Fig. 9c *chr*). Die Kügelchen und Fädchen werden dicker. An anderen Stellen werden durch diesen Prozeß der achromatischen Grundsubstanz der Wabenwände die Chromatinkörner ganz entzogen. In Glycerin oder Wasser untersucht ist die achromatische Grundsubstanz der Wände als zusammenhängendes Gerüst deutlich. Das Chromatin (*chr*) liefert beim Zusammenfließen die mannigfaltigsten Bilder. In den Knotenpunkten der Waben sammelt sich besonders häufig eine Chromatinmenge an, um an den Wänden entlang mehr oder weniger dicke Ausläufer zu entsenden (Taf. XII Fig. 9d). Daß das Chromatin der Chromidialsubstanz zähflüssig zu denken ist, ging schon aus früheren Beobachtungen an der lebenden Chromidialsubstanz hervor, und die Bilder, welche sich beim Zusammenfließen des Chromatins ergeben, bestätigen dies wieder. Taf. XII Fig. 4 stellt eine Partie des Inhalts einer solchen Cyste dar; sie zeigt die Plasmakugeln (*pk*) unverändert; oft sind mehrere von ihnen zusammengeflossen.

Die Verschmelzung des Chromatins schreitet fort und man findet alle Übergangsstadien von dem im ganzen Wabenwerk der Chromidialsubstanz verteilten Chromatin vor, bis zu Zuständen, wo wir nur noch Balken und Klumpen mit und ohne Ausläufer der typisch gefärbten Substanz finden (Taf. XII Fig. 9a—f, Fig. 10a *chr*). Auch in solchen Stadien sind die großen Plasmakugeln noch unverändert vorhanden (Taf. XII Fig. 5). Außerdem findet man meist eine feinkörnige Plasmazone (*pl* am Rande und zwar merkwürdigerweise nur

an einer Seite. An besonders günstigen Präparaten fand ich, daß dieselbe von der Chromidialsubstanz durch eine sehr feine Membran (Taf. XII Fig. 5m) abgegrenzt ist. Die Chromidialsubstanz hat durch das Zusammenfließen ihrer chromatischen Bestandteile natürlich ihren Habitus ganz verändert. Das achromatische Gerüst ist noch als Wabenwandungen vorhanden. Auf Taf. XII Fig. 5 nimmt man an der Stelle, an der die Cystenmembran sich losgelöst hat, einen ganz dünnen Grenzsaum aus achromatischer Substanz wahr. Der plasmatische Belag fehlt an dieser Stelle. Die Kohlehydratkörnchen der Chromidialsubstanz haben ihre regelmäßige Anordnung beibehalten, in jedem Wabeninhalt ein Korn. An Kanadabalsampräparaten, an denen meist die achromatischen Wände nicht erkennbar sind, geht aus der regelmäßigen Anordnung der, wie stets, mit Gentianaviolett blau gefärbten Gebilde (*gk*) hervor, daß sich dieselben noch in ihrer ursprünglichen Lage befinden und nicht etwa in der Cyste regellos umherschwimmen.

Diese Stadien sind sehr häufig und lange andauernd. Wenn man sie findet, ohne viele andere Stadien untersucht zu haben, steht man dieser Menge von Körnern und Kugeln, die sich alle durch ihre chemische Natur und ihr Verhalten gegen Farbstoffe typisch voneinander unterscheiden, und welche zuerst regellos angeordnet zu sein scheinen, ratlos gegenüber.

An diese Stadien schließen sich weiterhin solche an, bei denen eine kontinuierliche, noch blasse plasmatische Grundsubstanz aufzutreten beginnt. Bei diesem Prozesse werden die großen Plasmakugeln kleiner und verschwinden schließlich ganz. Taf. XII Fig. 6 zeigt ein Übergangsstadium. Hier ist bereits spärlich plasmatische Grundsubstanz (*pl*) vorhanden. Plasmakugeln (*pk*) finden sich ebenfalls noch, aber weniger und kleiner als vorher. Im Grundplasma erkennt man die blauen Kohlehydratkörner (*gk*). Letztere werden kleiner und unregelmäßiger. Schließlich verschwinden sie gänzlich. Sie werden aufgelöst und haben wohl als Reservenahrung zu dienen. Sie sind von da an absolut nicht mehr nachweisbar. Allmählich wird das verbindende Grundplasma reichlicher und färbt sich stärker. Je mehr es sich ausbreitet, desto kleiner werden die Plasmakugeln. Sie fließen vermutlich zum Grundplasma zusammen. Man erkennt im Plasma noch undeutlich blasse Kugeln (Taf. XII Fig. 7), welche auf seine Entstehung hinweisen. Die Kohlehydratkörner sind jetzt vollständig aufgelöst. Auch von der achromatischen Grundsubstanz der Hüllen der Chromidialsubstanz ist nichts mehr nachweisbar; ob sie nicht mehr vorhanden, oder ob sie von dem sich ausbreitenden Plasma

verdeckt wird, ist schwer zu sagen. Jedenfalls ist das achromatische Gerüst eine dem Protoplasma so ähnliche Bildung, daß die beiden Substanzen nicht voneinander unterscheidbar sind.

Das Chromatin, dessen Zusammenfließen in der Chromidialsubstanz wir verfolgten, ist in unregelmäßigen Balken und Klumpen im Plasma verteilt (Taf. XII Fig. 7 u. 7a *chr*). Manchmal sind in ihm feine Vakuolen wahrzunehmen, meist erscheint es jedoch recht kompakt, stets mit Kernfarbstoffen (hier Safranin) sehr stark gefärbt.

Im Plasma kann man außer jenen Resten der Plasmakugeln keine feineren Strukturen sehen; doch erscheint es an manchen Stellen fein granuliert. Außerdem findet man im Plasma spärlich kleine Kügelchen und Körnchen (*chr*), die sich mit Safranin gefärbt haben. Es sind dies wohl zum Teil dieselben Gebilde, die vorher in den Plasmakugeln sich befanden. Da letztere aber mit Kernfarbstoffen sich ebenso wie das Chromatin der Chromidialsubstanz färben, so läßt sich nicht angeben, welches diejenigen sind, die aus den Plasmakugeln stammen; man kann diese Körnchen des Plasmas ebensogut für Partien des Chromidialsubstanzchromatins halten.

Am Rande der Cyste finden wir eine Plasmazone, in welche viele kleinste Körnchen (*gr*) eingelagert sind, welche sich violett färben und deren Herkunft ich nicht angeben kann. Eine Abgrenzung dieser Randpartie vom übrigen Plasma ist nicht vorhanden, vielmehr gehen beide ineinander über. Diese Körnchen verteilen sich später im Plasma. Wie Taf. XII Fig. 8 u. 8a zeigen, wird die Randpartie blässer und im Plasma findet man viele kleinste blasse violette Körnchen (*gr*), die offenbar aus dieser Randzone stammen. An Fig. 8 ist ferner zu sehen, daß das Plasma an einzelnen Stellen immer noch seine kugelige Beschaffenheit andeutungsweise erhalten hat. Man sieht dies auch an der Anordnung der blauen Körnchen.

Die Chromatinbrocken, welche aus der Chromidialsubstanz zusammengeflossen sind und recht kompakt erschienen, beginnen nun sich zu zerklüften und zu vakuolisierten unregelmäßigen Balken, Strängen und Kugeln zu werden (Taf. XII Fig. 8 u. 8a *chr*). Besonders häufig kugeln sich kleine vakuolisierte Partien des Chromatins ab. Zuerst sind sie ungleich groß, doch verschwinden allmählich die Größendifferenzen. In einzelnen solcher Kugeln (*kk*) kann man kleinere dunklere Inhaltskörnchen erkennen, die sich von der sie umgebenden Substanz deutlich abheben (Fig. 9f). Eine Membran umgibt die Kugeln noch nicht. Die kugeligen Gebilde, welche eine Struktur im Innern zeigen und wohl als neue Kerne anzusehen sind, sind alle untereinander fast gleich groß, etwa 4—6 μ im Durchmesser.

Digitized by Google

Von den alten Kernen haben sich bis jetzt häufig zwei oder drei noch erhalten. Sie sind ohne Membran, aber teilweise deutlich durch ihre oft noch recht stark gefärbten Binnenkörper (Taf. XII Fig. 8 *k*). Jetzt gehen aber auch diese Kerne, welche sich so lange erhalten haben, zugrunde. Es ist überhaupt erstaunlich, wie sich einige der alten Kerne so lange erhalten können, während die meisten der doch im ganzen recht gleichartig gebauten Kerne kurz vor oder bei Beginn der Encystierung zugrunde gingen. Worauf das lange Erhaltenbleiben einzelner Kerne beruht, und was für eine Funktion sie zu erfüllen haben, ist mir gänzlich unerklärlich. Ich habe auf dem eben geschilderten Stadium alle alten Kerne membranlos gefunden, deren Binnenkörper sich noch ebenso stark färbten, wie das Chromatin aus der Chromidialsubstanz, aber auch Schnitte beobachtet, auf denen die alten Kerne fast ohne Binnenkörper oder gar nicht mehr nachweisbar waren.

Die Auflockerung und Abkugelung des Chromatins, das, wie wir also wissen, aus der Chromidialsubstanz hervorgegangen ist, schreitet fort. Auf Taf. XII Fig. 10 sehen wir, daß in dem feinkörnigen und gleichmässig stark gefärbten Plasma (*pl*) noch runde Chromatinkugeln (*chr*) vorhanden sind, welche ca. 3—4 μ im Durchmesser groß sind. Außerdem aber sehen wir eine große Anzahl kleiner typischer Kerne (*kk*), deren Durchmesser gewöhnlich 5 μ beträgt. Größe und Bau dieser kleinen Kerne ist in derselben Cyste stets konstant. Die Kerne (*kk*) sind bläschenförmig (Fig. 10a), von einer dünnen Membran (*km*) umgeben und haben im Innern etwa 10—15 sehr kleine chromatische Binnenkörper (*bk*). Ein Kerngerüst konnte ich nicht erkennen. Diese Gebilde sind nach ihrem Bau und ihrem Chromatingehalt zu urteilen ohne Zweifel Kerne. Es ist klar, daß die Kerne zu ihrem Aufbau das Chromatin aus der Chromidialsubstanz größtenteils aufgebraucht haben. Die alten Kerne sind jetzt nirgends mehr nachweisbar.

Wir konnten das Chromatin der Chromidialsubstanz deutlich verfolgen, in seinen Umwandlungen von der Lage in der Chromidialsubstanz bis zur Auflösung in kugelige Gebilde (Fig. 9a—f). Dagegen ist schwer verständlich, wo die große Masse des Chromatins der Chromidialsubstanz geblieben ist. Auf Taf. XII Fig. 8 (*chr*) sehen wir, welche große Mengen von Chromatin vorhanden sind; auf Taf. XII Fig. 10 ferner, daß viele neue kleine Kerne (*kk*) vorhanden sind, außerdem eine Anzahl ungleich großer Chromatinkugeln (*chr*). Auf Taf. XII Fig. 10a k^1 wandeln diese Kugeln sich in Kerne um. Auf Taf. XII Fig. 11 erkennen wir, wie auch die letzten

Digitized by Google

Chromatinkugeln verschwunden sind, d. h. offenbar zum Aufbau der vielen kleinen Kerne verbraucht wurden. Im Verhältnis zu der großen Masse von Chromatin der früheren Stadien erscheinen nun die neuen Kerne sehr chromatinarm. Vielleicht ist aber Chromatin im Plasma fein verteilt; dasselbe färbt sich mit Flemming'scher Färbung stark rötlich und man erkennt oft feinste mit Safranin gefärbte Körnchen in demselben (Taf. XII Fig. 11 u. 11 a).

Das Plasma erscheint auf Fig. 11 an einer Stelle rein plasmatisch, d. h. seine feinen Granulationen haben sich mit Plasmafarbstoff rein tingiert. In dem ganzen übrigen Inhalt haben sich Granulationen mit dem hier verwendeten Safranin und Gentianaviolett mitgefärbt. Die Kerne (*kk*) sind im Plasma unregelmäßig verteilt und zeigen auf Fig. 11 a einen etwas veränderten Bau gegenüber Fig. 10 a. Sie haben auch eine dünne Membran, welcher hier von innen die verhältnismäßig größeren Binnenkörper anliegen. Außerdem sieht man im Kerninnern noch ein oder zwei, selten drei kleinere Binnenkörper. Der Durchmesser der Kerne beträgt hier etwa 8 μ.

Diese kleinen Kerne scheinen etwas variabel, denn man findet noch einen dritten Bautypus. Auf Fig. 12 u. 12 a sehen wir einen Teil der Binnenkörper der Kerne ganz peripher liegen und nach außen vorspringen, doch weiß ich nicht, ob sich diese Bilder nicht etwa auf Schrumpfungserscheinungen zurückführen lassen; der helle Hof, welcher jeden Kern umgibt, deutet eigentlich darauf hin. Da ich derartige Bilder häufig fand, wollte ich sie kurz erwähnen. Der Durchmesser der Kerne beträgt 6 μ. Das Plasma ist am Rande mit chromatischen Granulationen durchsetzt, in der Mitte mit plasmatischen.

Die geschilderten Stadien, welche die Umbildung des Chromatins der Chromidialsubstanz in die neuen kleinen Kerne zeigen, fand ich von Ende Januar ab bis Ende April, ebenso auch die Stadien, in welchen die kleinen Kerne fertig ausgebildet sind. Viele Cysten bleiben jedoch sehr lange auf dem Stadium der Fig. 7, 7 a, 8 und ebenso 9 f stehen, in welchem die Chromidialsubstanz in Balken und Klumpen im Plasma liegt, also kurz vor der Bildung der neuen Kerne.

Zweimal fand ich Ende April in frisch aus dem Walde geholtem Material und einmal am 5. Mai in einer meiner Kulturen Cysten, welche lebend untersucht, nach Abpräparieren der Schale, deutlich erkennen ließen, daß sie mit kleinen Cysten vollständig erfüllt waren.

Die nebenstehende Textfigur II zeigt eine solche Cyste, die von kleinen Cysten erfüllt ist. Ich überzeugte mich, daß die sie gemeinsam umschließende Cystenhülle unverletzt war und zerdrückte nun vorsichtig die Cyste in der Hoffnung, die Inhaltsgebilde der kleinen Cysten so lebend zu Gesicht zu bekommen. Leider glückte mir das aber nicht. Der Inhalt war wohl vorher abgestorben und ich fand nur wenig Plasmareste in demselben. An Schnitten sah ich dagegen öfters Gebilde, die sich mit diesen Sekundärcysten identifizieren lassen könnten. Beim Schneiden ist jedoch häufig die sie gemeinsam umgebende Cystenhülle eingerissen und die spröden kleinen Sekundärcysten sind teilweise herausgerissen, so daß ich keine Schnitte erhielt, in welchen die Cyste ebenso prall mit Sekundärcysten bei unverletzter Hülle gefüllt war, als bei den frisch untersuchten Cysten. Ich bin deshalb hier nicht imstande, den Einwand, es könne sich vielleicht um eingedrungene und encystierte Amöben handeln, genügend zu widerlegen. Ich glaube aber, auch nach Vorgängen an verwandten Tieren, daß sich jeder der kleinen Kerne, deren Bildung wir verfolgten, mit einer Plasmaportion umgibt und eine feine Cystenmembran ausscheidet, doch ist es mir bis jetzt nicht gelungen, diesen Vorgang selbst zu verfolgen.

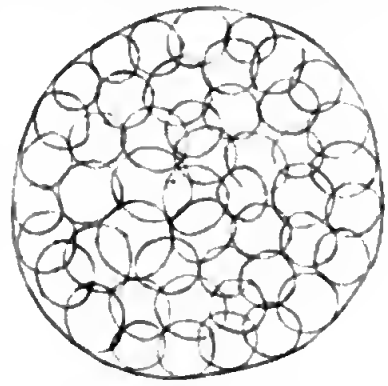


Fig. II.

Der Kern der Gebilde, welche ich auf meinen Schnitten als Sekundärcysten (Taf. XII Abb. 13) ansprechen möchte, ist bläschenförmig. Er zeigt eine dünne Membran (km). Der Durchmesser beträgt 4—6 μ. In demselben fand ich entweder einen großen Binnenkörper (*bk*), den man noch als aus mehreren kleinen zusammengeflossen erkennen konnte, oder einen größeren, oft eckigen und einen kleinen runden Binnenkörper (Taf. XII Fig. 13a, b, c, *bk*). Die Binnenkörper der kleinen Kerne hatten sich auch auf den früheren Stadien als variabel gezeigt; es ist also auch leicht möglich, daß sie hier eine Neigung zeigen, zusammenzufließen. — Das Plasma der kleinen Cysten ist fein granuliert und färbt sich nur mit dem Plasmafarbstoff.

Der von den früheren kleinen Kernen verschiedene Habitus dieser kleinen Kerne ließ den Gedanken in mir aufkommen, ich möchte vielleicht nicht die wirklichen Sekundärcysten der Difflugien,

sondern fremde Parasiten vor mir haben. Ich fand aber diese Gebilde in 10 Difflugiencysten. Gegen ihre parasitäre Natur spricht auch, daß sie nur in Cysten vom März, April und Mai vorkamen.

Leider ist es mir nie gelungen, Cysten zum Auskeimen zu bringen. Ich habe Kulturen zwei Winter und zwei Sommer hindurch gehalten. Die Tiere encystierten sich im Winter und blieben seitdem in diesem Zustand. Ich sorgte für gute Durchlüftung der Kulturen durch reichlichen Pflanzenwuchs, brachte die Cysten in anderes Wasser, oder ließ sie erst austrocknen und brachte sie dann wieder in Kulturwasser, jedoch ohne jeden Erfolg.

Im Freien findet man Anfang Mai noch Cysten, entweder im Stadium kurz vor der Bildung der kleinen Kerne oder schon mit kleinen Kernen. Ende Mai fand ich meist schon junge, vielkernige unencystierte Tiere mit wenig Chromidialsubstanz von dem Bau, wie ihn die Chromidialsubstanz nach meinen Befunden im Frühjahr stets zeigte. Außerdem fand ich vereinzelte Cysten, welche entweder kurz vor Bildung der kleinen Kerne standen, oder schon vielkernig waren. Anfang Juni dagegen fand ich im Freien keine Cysten mehr.

Ich beabsichtige, diese Studien fortzusetzen und hoffe, wenn ich imstande sein werde, die Cysten regelmäßig im Freien in ihren natürlichen Bedingungen zu beobachten, vielleicht zu günstigeren Resultaten zu gelangen. Für vorliegende Arbeit stand mir nur das Material aus meinen allerdings reichen Kulturen zur Verfügung, das ich aber nur selten mit frischem Material vergleichen konnte.

III. Allgemeines.

A. Die Chromidialsubstanz.

Wegen dieser Lücke in der Kenntnis des Lebenscyklus von Difflugia urceolata bin ich leider nicht imstande, die wichtige Frage nach der Herkunft der Chromidialsubstanz zu beantworten. Wenn es auch im Laufe meiner Untersuchungen mehrfach den Anschein hatte, als ob die Chromidialsubstanz während des vegetativen Lebens der Difflugien Chromatin aus den Kernen erhält, so kann ich diese Frage doch nicht entscheiden, solange ich nicht das erste Auftreten der Chromidialsubstanz selbst verfolgt habe.

Ich fand bei normalen Difflugien stets die Binnenkörper der Kerne ebenso stark gefärbt wie das Chromatin der Chromidialsubstanz, nicht schwächer, wie Hertwig (1899) von den Primärkernen der Arcella

Digitized by Google

und auch von Difflugienkernen beschreibt. Hertwig sagt ferner (1902), daß alles Chromatin an Nukleolarsubstanz gebunden sich in Form des Chromidialnetzes durch den größten Teil des Protoplasmas erstrecke. Jedoch ergaben die von mir angestellten Verdauungsversuche das Vorhandensein von Nukleinen sowohl im Chromidialgerüst als auch in den Kernen (s. S. 253). Ich kann mich also der Meinung von Hertwig (1902), „die Kerne der Monothalamien scheinen völlig chromatinfrei, ihre Nukleoli nur aus Nukleolarmasse gebildet zu sein", nicht anschließen. — Die auffallend schwache Färbbarkeit des Protoplasmas, welches nach Hertwig bei Süßwassermonothalamien aus achromatischer Substanz besteht, kann ich, wenigstens für unencystierte Tiere, vollständig bestätigen.

Ich vermag nicht zu sagen, wie Difflugia urceolata, die während des vegetativen Lebens stets vielkernig ist, diesen Zustand ausbildet. Kernteilungen wurden nie beobachtet; ebensowenig aber fand sich während des vegetativen Lebens Kernbildung aus der Chromidialsubstanz. Jedenfalls dürfte aus meinen Beobachtungen wohl hervorgehen, daß die Vielkernigkeit nicht, wie mehrere Forscher vermuten, mit der Fortpflanzung in Verbindung steht. Vielmehr scheint eine Analogie dieser Kerne mit den Großkernen der Infusorien vorzuliegen. Man nimmt allgemein an, daß die Großkerne der Infusorien auf die gewöhnlichen Lebensprozesse der Infusorien ihren Einfluß ausüben. Dieselbe Rolle scheinen die während des vegetativen Lebens der Difflugien unverändert bleibenden vielen Kerne zu spielen. Die Großkerne der Infusorien zerfallen während der Konjugation oder gehen einfach zugrunde. Die sexuellen Kleinkerne kopulieren miteinander. Die vielen Kerne der Difflugien zeigen, wie wir sahen, ebenfalls stets deutliche Zerfalls- und Degenerationserscheinungen, und zwar während und nach der Kopulation und Konjugation. Bei der Kopulation findet bei den Difflugien keine Karyogamie morphologisch individualisierter Kerne statt. Dieselbe Rolle wie die Karyogamie bei anderen Protozoen fällt hier wohl der vollständig verschmelzenden Chromidialsubstanz der beiden Individuen zu. Die Chromidialsubstanz und zwar deren chromatische Bestandteile, welche früher genauer beschrieben wurden, ließen sich demnach eventuell den Mikronuklei der Infusorien vergleichen. Die chromatischen Bestandteile der Chromidialsubstanz bilden in der aus der Kopula sich bildenden Cyste die Kerne für die neue Generation. Die Kopula wäre also auch hier für die Erhaltung der Art von größter Bedeutung.

Ein großes Bedenken gegen diesen sonst so einleuchtenden

Vergleich, den auch Schaudinn (1903) für die Bedeutung der Chromidialsubstanz heranzieht, liegt aber in der Tatsache, daß innerhalb der Chromidialsubstanz zuzeiten ein glykogenartiges Kohlehydrat gebildet wird, das während der Cystenentwicklung der Tiere als Reservematerial aufgebraucht wird. In den Arbeiten R. Hertwigs (1899, 1902), welcher die Beziehungen von Kern und Chromidialsubstanz bei den Süßwasserrhizopoden entdeckte, und in der Mitteilung von Schaudinn (1903) werden die Beziehungen von Kern und Chromidialsubstanz ausführlich beschrieben. Die Ausbildung von Kohlehydratkörnern innerhalb der Chromidialsubstanz, welche zeitweise, gegen Ende des vegetativen Lebens der Difflugien, d. h. vor Ausbildung der Cysten, stattfindet, scheint mir aber die Bedeutung der Chromidialsubstanz noch in ein anderes Licht zu setzen. Ich fand diese typischen Kohlehydratkörner stets im Herbst in der Chromidialsubstanz bei Difflugia urceolata, Difflugia lobostoma, Difflugia pyriformis und Lecquereusia spiralis (Taf. III, Fig. 15 und 15a, *gk*). Bei diesen drei Formen fiel die Cystenbildung in den Herbst, die Ausbildung der Kohlehydratkörner also kurz vorher. Bei allen drei Difflugienarten fand ich während ihres sonstigen vegetativen Lebens die Chromidialsubstanz frei davon und einen Bau zeigend, wie ich ihn für Difflugia urceolata für Frühling und Sommer als charakteristisch beschrieb.

Einen dieser kohlehydratfreien Chromidialsubstanz sehr ähnlichen Bau fand ich stets bei unencystierten Arcellen. Bei Arcella ist der Bau der Chromidialsubstanz dicht und sehr kompakt. Auch fand ich ebensolche junge zwei- und dreikernige Cysten, wie sie Hertwig (1899) (Taf. XXXVII, Fig. 10 und 11) abbildet, und welche auch eine gewisse Ähnlichkeit mit jungen Difflugiencysten zeigen. Ich glaube übrigens auch, wie Hertwig ursprünglich, daß es sich dort um jung encystierte Arcellen handelt. Plasma und Chromidialsubstanznetz durchdringen sich, wie auch Hertwig beschreibt, vollständig. Dasselbe schildert auch Schaudinn (1903) bei der Encystierung von Centropyxis aculeata. Ich vermochte hier auch von der feineren Struktur der Chromidialsubstanz solcher Arcellacysten wenig zu erkennen. Jedoch fand ich auch andere Arcellacystenstadien, von denen ich allerdings noch nicht sicher weiß, ob sie mit den von Hertwig beschriebenen in Zusammenhang stehen, oder ob es sich vielleicht um zwei verschiedene Arten von Cysten handelt. Doch glaube ich das erstere nach der Ähnlichkeit mit den bekannten Difflugiencysten. Bei diesen Arcellacysten (Taf. XII, Fig. 14) liegt die Chromidialsubstanz (*chrs*) zentral und in ihrer Mitte zwei offenbar

degenerierende Kerne (*k*); an der Oberfläche das recht dichte, stark färbbare, typische Cystenplasma (*pl*), das größtenteils zu Kugeln (*pk*) differenziert ist. Daß es Plasma ist, geht aus seinem Verhalten gegen Farbstoffe hervor. Es färbt sich ganz blau bei Doppelfärbungen von Bleu-de-Lyon und Safranin, Orange mit dem Flemming'schen Dreifarbengemisch. Die Plasmakugeln färbt dagegen der Kernfarbstoff etwas diffus oder macht darin Inhaltsgebilde deutlich, wie in denen der Difflugien. Die Kugeln liegen hier noch an der Grenze von Plasma und Chromidialsubstanz. Dies Stadium erinnert lebhaft an solche von Difflugien, welche ich häufig fand und von denen ich eines auf Taf. XII, Fig. 1 darstellte. In solchen Arcellacysten kann man die Struktur der Chromidialsubstanz erkennen (Taf. XII, Fig. 14a). Sie hat offenbar dieselben Veränderungen durchgemacht, wie die der Difflugien. Sie ist jetzt deutlich regelmäßig fein alveolär gebaut. Die Wände (*g*) der Waben färben sich stark mit Kernfarbstoffen. Vermutlich rührt dies, wie bei den Difflugien genauer gezeigt wurde, von kleinen Körnchen her, die sehr dicht in ein ungefärbt bleibendes Stroma eingelagert sind. Ich konnte die achromatische Grundsubstanz hier nirgend scharf unterscheiden, sie ist wohl aber sicher vorhanden, ebenso wie bei den Difflugien. In den Knotenpunkten liegen überall deutlich größere Körnchen (*chr*), welche sich sehr stark mit Kernfarbstoffen tingieren lassen. Der Wabeninhalt (*gk*) zeigt nun mit dem Flemming'schen Dreifarbengemisch eine deutliche schwache Blaufärbung. Das spricht, nach Analogie bei Difflugien, für Kohlehydratinhalt. Arcellacystenschnitte von diesem Stadium behandelte ich mit 1 proz. Kalilauge und dann mit Jodjodkalium. Es trat eine leichte Bräunung des Wabeninhaltes ein, welche mir aber nicht ganz so deutlich schien, wie die des kohlehydrathaltigen Chromidialsubstanzwabeninhalts der Difflugien. Eine typische Bräunung war aber da. Das spricht für das Vorhandensein von Kohlehydrat auch in der Chromidialsubstanz junger Arcellencysten. So individualisierte Körner wie bei den Difflugien konnte ich jedoch nicht deutlich machen. Die Kleinheit der Waben wirkt bei Arcella erschwerend. Auch füllt vermutlich bei Arcella das Kohlehydrat fast den ganzen Wabeninhalt aus. Offenbar ist ein Hof, welcher die Verhältnisse bei Difflugien so deutlich machte, zwischen Wabenwand und Kohlehydrat nur minimal oder gar nicht vorhanden. — Bei anderen Arcellacysten fand ich dann später Auflösung der alten Kerne und verschiedene Verhältnisse, auf welche ich, wenn ich noch mehr Material habe, später zurückzukommen hoffe.

Jedenfalls sehen wir, daß die Chromidialsubstanz Aufgaben im

Tierkörper zu erfüllen scheint, welche durch ihre Mannigfaltigkeit in Erstannen setzen und für welche ich bei Tieren und Pflanzen vergeblich nach einer Analogie suchte. Es gibt keine Kerne, welche Kohlehydrate enthalten. Zwar ist ja die Möglichkeit nicht ausgeschlossen, daß gelöste Stoffe von außen her in die Chromidialsubstanz eintreten, um dort die Kohlehydratkörner zu bilden. Jedenfalls aber spricht das Vorhandensein von Kohlehydratkörnern gegen die Kernnatur der Chromidialsubstanz. Durch die Fähigkeit der Kohlehydratbildung in ihrem Innern erinnert die Chromidialsubstanz etwas an die Chromatophoren der Pflanzen und vielleicht insbesondere an deren Pyrenoide. Den Pyrenoiden jedoch mangelt natürlich vollständig der Charakter, wegen welchem ich die Chromidialsubstanz mit dem Mikronuklei verglich. Für die Chromidialsubstanz ist das Vorhandensein von Chromatin charakteristisch. Für die Pyrenoide dagegen glaubt Zacharias (1885) nachweisen zu können, daß sie in der Hauptmasse aus echten Eiweißstoffen bestehen und ganz frei von Nukleinen sind. Sie sollen von künstlichem Magensaft in 24 Stunden verdaut werden. Die Chromatophoren sind Gebilde, welche immer wieder nur aus ihresgleichen durch Teilung gebildet werden. Die Pyrenoide sollen entweder durch Teilung oder durch Neubildung innerhalb der Chromatophoren entstehen. Einem Pyrenoid liegen außen viele Stärkekörner wie eine Hülle auf. Wir finden also viele durchgreifende Unterschiede zwischen den Pyrenoiden und der Chromidialsubstanz mit ihren Kohlehydratkörnern.

Ich möchte ferner noch auf die Ähnlichkeit der Chromidialsubstanz in ihrem kohlehydratlosen Zustand mit dem Zentralkörper der Cyanophyceen und Bakterien hinweisen. Hier wie dort sind es keine morphologisch abgegrenzten, mit Membran versehenen Kerne, sondern nur erst Chromatinkörnchen, die einer wabigen Grundsubstanz eingelagert sind und Kernfunktionen auszuüben scheinen. Vermutlich stehen diese beiden Ausbildungsstufen des Kernes in phylogenetisch naher Beziehung zueinander.

Die Chromidialsubstanz der Süßwassertestaceen wurde in früheren Arbeiten schon beschrieben. So bildet Verworn (1890) typische Chromidialsubstanz von Difflugia lobostoma ab, und beschreibt unzweifelhaft kohlehydrathaltige Chromidialsubstanz der einkernigen Difflugia lobostoma im Dezember: „Der eigentümlichste Teil des Körpers ist der im Fundus der Schale gelegene. Hier findet man eine Masse von sehr feinen, ganz eng aneinander gelagerten, hell olivenfarbigen Körnchen, in deren Mitte der in der Einzahl vorhandene Zellkern liegt. Die Körnchen sind so dicht gedrängt, daß kaum

die protoplasmatische Grundsubstanz zu erkennen ist." Er gibt an, daß keine Einwirkungen von Säuren oder Kalilauge auf die Körnchen bemerkt wurde. Offenbar löste sich wohl die Gerüstsubstanz, wie ich die Wabenwände, welche die Kohlehydratkörner umgeben, nannte; die Kohlehydratkörner dagegen blieben, wie auch die von mir untersuchten, unverändert. — Er beobachtete ferner, daß sich die Körnchen mit Jodlösungen intensiv dunkelbraun färben, während das Plasma gelb gefärbt wurde; also eine typische Reaktion auf Kohlehydrat. „Mit Karminfarben wurde die Körnermasse sehr stark gefärbt." Hätte Verworn versucht, die Körnchen zu färben, welche er vorher mit Kalilauge behandelt hatte, so hätte er wohl sicher gefunden, daß die Fähigkeit, sich mit Karminfarbstoffen zu färben, verschwunden war. Dieselbe kommt nur, wie wir sahen, der chromatinreichen Hülle der einzelnen Kügelchen zu. Wir sehen also hier das gleiche Verhalten mit der früher beschriebenen kohlehydrathaltigen Chromidialsubstanz von Difflugia urceolata. Es ist nur seltsam, daß Verworn im weiteren Verlauf keine Encystierungsvorgänge beobachtete.

Verworn sagt von den Körnchen, daß er über ihre chemische Natur nichts aussagen kann. Er hält die Körnchen im Fundus der Schale von Difflugia lobostoma für analog mit größeren, weiter vorn im Weichkörper gelegenen, ganz ähnlichen, äußerst feinen olivenfarbigen, stark lichtbrechenden Körnern, die sich im Endoplasma von Difflugia urceolata finden und die nach seiner Meinung beim Schalenbau als Kittsubstanz für die Sandkörner dienen. Er hält die Körnchen in der Kernnähe für Jugendstadien dieser weiter vorn liegenden Körner. Ich fand vorn im Weichkörper von Difflugia urceolata dieselben angeblichen Körner. Ich fand die gleichen in der Schale wieder und bezeichnete sie auch während ihrer Lage im Weichkörper als Schalenplättchen. Wir haben die chemischen und physikalischen Unterschiede zwischen diesen Schalenplättchen in der vorderen Zone des Weichkörpers und den mehr im Fundus der Schale gelegenen Kohlehydratkörnern der Chromidialsubstanz kennen gelernt. Die Körnchen in der Kernnähe dagegen, von denen Verworn annimmt, „daß sie unter dem Einfluß des Zellkerns gebildet, eventuell von ihm selbst direkt produziert werden", sahen wir innerhalb der Chromidialsubstanzkugeln sich bilden. Sie sind im polarisierten Licht doppeltbrechend und in Speichel löslich. Die anderen größeren, unregelmäßigeren Körner und Plättchen, welche im vorderen Teile des Weichkörpers liegen, sind einfach brechend, in Speichel wie in Mineralsäuren unlöslich. Man findet sie häufig in der Schale wieder;

sie lösen sich in Flußsäure. Sie sind wohl vom Tier selbst ausgeschiedene amorphe Kieselsäure. Keinesfalls also stehen sie im Zusammenhang mit den von mir als Chromidialsubstanzinhaltsgebilde beschriebenen Körnchen in der Kernnähe, wie Verworn dies annimmt.

Rhumbler faßt die stark färbbare Masse verschiedener Difflugien, welche um den Kern herumliegt, als Plasmaschicht auf; er nennt sie perinukleäre Zone und bildet sie vielfach ab (1895, 1898). Sie hat dort die Beschaffenheit wie etwa die Chromidialsubstanz bei Arcella und die der kohlehydratlosen Chromidialsubstanz der Difflugia urceolata. Mir fällt besonders eine Schilderung (1895) auf. Es handelt sich um die hintere Körperzone von Cyphoderia magaritacea, von der Rhumbler sagt: „Sie unterscheidet sich vom Plasma der ersten Zone dadurch, daß man ein regelmäßiges Wabenwerk zu erkennen glaubt, dessen Wabeninhaltsmassen hier und da einen eigentümlichen Glanz verraten.“ Diese Schilderung erinnert lebhaft an die kohlehydrathaltige Chromidialsubstanz, wie wir sie bei Difflugien finden. Eine weitere Beobachtung (Rhumbler 1895) scheint mir für Bildung und Funktion der Chromidialsubstanz von großer Wichtigkeit zu sein: Es handelt sich um Konjugationsexemplare von Cyphoderia margaritacea: „Es finden sich an verschiedenen Stellen des Körpers kleine rot gefärbte Gebilde von unbestimmter Gestalt und Größe, welche ihrer Farbenintensität nach etwa den Binnenkörpern innerhalb des Kerns entsprechen.“ Und weiter: „Sie machen den Eindruck von weichen, zähflüssigen Substanzquantitäten, die sich vielleicht in den Kanten der Protoplasmawaben mehr oder weniger zu kleinen Kugeln kontrahiert haben, oder aber auch in mehreren aneinander stoßenden Waben verbreitet haben, so daß parallele oder gerade Reihen durch sie formiert worden sind, welche voraussichtlich den zusammenhängenden Wabenreihen des Protoplasmas entsprechen. Man könnte diese fraglichen Gebilde für ausgestoßene Chromatin- oder Binnenkörpermasse halten und in einem Austausch dieser Massen die Bedeutung des Konjugationsaktes suchen zu müssen glauben.“ Ich glaube, daß Rhumbler hier Chromidialsubstanz schildert, und daß seine Mutmaßung die rechte ist.

Während und nach der Konjugation der Difflugien trat die Auflösung der Kerne regelmäßig ein. Vermutlich tritt ihre Chromatinmenge zu der der Chromidialsubstanz. Die Chromidialsubstanzen verschmelzen und vermischen so ebenso ihr Chromatin, wie dies sonst bei der Karyogamie von Kernen geschieht. In dieser Verschmelzung des Chromatins der Chromidialsubstanz bei Konjugation und Kopulation liegt wohl die Hauptbedeutung dieser Vorgänge.

B. Die Konjugation.

Die drei verbundenen Tiere, welche ich in Taf. XI Fig. 1 zeigte, halte ich für einen Konjugationsakt. Auch dort fanden wir Chromidialsubstanz im Austausch zwischen den drei Tieren begriffen, die Kerne teilweise in Auflösung. Vermutlich geht hier nur ein Austausch von Chromatin, ähnlich wie bei dem von Rhumbler beschriebenen Konjugationsexemplar von Cyphoderia vor sich. Kopulation scheint mir nicht vorzuliegen. Der Vergleich mit den echten Kopulationsexemplaren spricht dagegen.

Bei der Beurteilung dieser drei konjugierenden Difflugien drängt sich mir der Vergleich mit den drei und zwei miteinander konjugierenden Arcellen auf, welche Bütschli (1875) beschrieb, und nach deren Auseinandertreten er das Auftreten amöbenartiger Fortpflanzungskörper in zwei derselben beobachtete. Das ganze Plasma des Mutterkörpers war bei der Bildung der amöbenartigen Fortpflanzungskörper aufgebraucht.

Ganz ähnliche Verhältnisse hat auch Jaworowsky beobachtet und in einer kleinen Abhandlung veröffentlicht, welche polnisch geschrieben und daher recht unbekannt geblieben zu sein scheint. Jaworowsky beobachtete viele einkernige Difflugia globulosa, welche sich mit den Schalenöffnungen aneinander legten. Zwischen den Paarlingen fand eine lebhafte Strömung statt. Was für Substanzen die beiden Tiere austauschten, konnte Jaworowsky, der undurchsichtigen Schale wegen, nicht beobachten. Auf Präparaten machte es ihm den Eindruck, als wäre der ganze Weichkörper in lebhafter Umwälzung begriffen. Nach der Konjugation, wie man diesen Vorgang wohl bezeichnen muß, gehen die Tiere auseinander. Die Schalen beider sind gefüllt und weisen viele kleine Kerne auf. Wie die stets nach der Konjugation auftretende Vielkernigkeit aber zustande kommt, weiß Jaworowsky nicht. Der eine große Kern ist nicht mehr vorhanden. Er zeigte während des ersten Auftretens der kleinen Kerne Degenerationserscheinungen. Die kleinen, bläschenförmigen Kerne, deren Zahl schwankt, sind in den Weichkörpern beider Schalen verstreut. Sie umgeben sich nun jeder mit einer Portion Plasma und die so gebildeten Plasmaportionen trennen sich schließlich voneinander und schwärmen aus. Das Schicksal der Schwärmer ist unbekannt. Auf den Abbildungen kann man die Prozesse deutlich verfolgen. Besonders Taf. XI B Fig. 2 ist interessant. Sie stellt das Stadium dar, in welchem der große Kern blasser geworden und offenbar degeneriert ist und die kleinen Kerne aufzutreten beginnen.

Digitized by Google

Auch Blanc (1892) bildet Taf. XI Fig. 16 ein Stadium von Difflugia globulosa ab, das den von Jaworowsky beschriebenen entspricht. Der Weichkörper der gewöhnlich einkernigen Form enthält viele Kerne; neun derselben haben sich mit Plasma umgeben und sind amöbenähnliche Gebilde. Die übrige Plasmamenge des Tieres enthält neun weitere Kerne. Die Abschnürung in kleine Plasmaportionen sollte offenbar noch erfolgen.

Eine Beobachtung, welche man auf die Chromidialsubstanz beziehen könnte, findet sich weder bei Jaworowsky noch bei Blanc.

Von dem Vorhandensein von Chromidialsubstanz bei unveränderten Difflugia globulosa und lobostoma habe ich mich auf Präparaten häufig überzeugt. Auch hatte ich Gelegenheit, auf einem Präparate von Difflugia lobostoma, das ich der Güte des Herrn Prof. Rhumbler verdanke, zu sehen, daß der ganze Weichkörper des Tieres in viele amöbenähnliche Teilstücke zerfallen war. Jedes Teilstück hat einen kleinen Kern. Chromidialsubstanz war nicht zu entdecken, obgleich die unveränderten Difflugia lobostoma dieselbe deutlich aufweisen.

Hertwig bildet (1899) Taf. XXVIII Fig. 4a eine Difflugia globulosa ab. Dieselbe zeigt ein deutliches Chromidialnetz. Dasselbe liegt dem Kern des Tieres dicht an. Außerdem sehen wir an dem Kern der Difflugia globulosa fünf kleine Körper, welche der Kernmembran außen anliegen und die den Habitus der im Kern befindlichen Binnenkörper zeigen. Es macht ganz den Eindruck, als ob es sich hier um ausgestoßenes Chromatin des Kernes handele. Im Texte wird diese Erscheinung nicht erwähnt. Steht das Austreten von Binnenkörpern dort auch mit Konjugation in irgendwelcher Beziehung?

Wir sahen in normalen Difflugia globulosa und lobostoma je einen großen Kern und Chromidialsubstanz. Jaworowsky beobachtete nach der Konjugation den Zerfall des großen Kernes. Jaworowsky und Blanc bilden die amöbenähnlichen Stadien ab, und ich konnte mich auf dem Präparat von Difflugia lobostoma überzeugen, daß auch dort die kleinen amöbenähnlichen Fortpflanzungskörper kleine Kerne, aber keine Chromidialsubstanz mehr enthielten. Nach diesen verschiedenen Schilderungen glaube ich nun, daß die Bildung der kleinen Kerne der amöbenähnlichen Fortpflanzungskörper so zustande kommt, wie Hertwig dies für die Sekundärkerne von Arcella beschreibt, daß also die Chromidialsubstanz zur Bildung der kleinen Kerne aufgebraucht wird. Nach diesen Vorgängen an anderen Formen scheint es mir nun wahrscheinlich, daß die Konjugation von Difflugia ähnliche Vorgänge einleiten sollte. Besonders die Kernauflösungen und

Digitized by Google

die Verteilung der Chromidialsubstanz (Taf. XI Fig. 1 a—e) in viele kleine Brocken, welche sich im Stadium der Frühlingstiere befindet, d. h. sie ist kompakt und sehr chromatinreich, ohne Kohlehydratinhalt, sind ins Auge fallend. Eine Erklärung dafür scheint mir vorhanden, wenn später eine ebensolche Bildung von Sekundärkernen aus der stark zerklüfteten Chromidialsubstanz erfolgt wäre, wie Hertwig dies für Arcella beschreibt. Auch würde durch die Schwärmerbildung und das Auswandern des Weichkörpers als kleine, amöbenähnliche Gebilde zu begreifen sein, woher in ganz lebensfähigen Kulturen stets die vielen leeren Schalen kommen. Doch scheint diese Vermehrungsart verhältnismäßig selten aufzutreten.

C. Die Kopulation.

Den Verlauf der Kopulation konnte ich im Herbst bei Difflugia urceolata besser an lebenden Tieren und an Präparaten verfolgen. Die zwei Tiere flossen zusammen; die Kopula kroch noch einige Zeit umher und bildete unter Degeneration ihrer Kerne eine Cyste. Die Hauptbedeutung bei der Kopulation scheint auch hier in der Verschmelzung der Chromidialsubstanz beider Tiere zu suchen zu sein, da aus derselben im weiteren Verlauf der Cystenentwicklung die Kerne für die neue Generation gebildet werden.

Blochmann beschreibt einen ganz ähnlichen Kopulationsvorgang von Euglypha alveolata. Zwei Tiere flossen zusammen, indem allerdings zum Unterschiede von Difflugia urceolata ihre gemeinsame Sarkode ein drittes aufbaute. Dieses aus der Kopula hervorgegangene Tier kroch noch 4 Tage umher und encystierte sich dann. Diese Tatsache der Encystierung nach Kopulation scheint mir von großer Wichtigkeit. Sie stimmt mit meinen häufigen Befunden an Difflugia urceolata überein. Leider ist nichts über das weitere Schicksal der Euglyphacyste bekannt.

Auch Schaudinn fand Kopulation bei Centropyxis mit nachfolgender Cystenbildung. Doch findet dort nicht einfache Isogamie statt, sondern die Gameten sind zu Mikro- und Makrogameten differenziert. Er beobachtete auch, wie aus der Cyste eine kleine Amöbe kroch, welche schließlich wieder zur typischen Centropyxis wurde.

Jickeli (1884) beschrieb eine Kopulation von Difflugia globulosa. Da Jickeli aber nicht das Zusammentreten der beiden gleich großen Tiere beobachtete, und das eine Tier eine hellere, also jüngere Schale besaß, als das andere, so ist es nicht ausgeschlossen, daß hier ein Teilungsprozess und keine Kopulation vorliegt. Blochmann

nimmt letzteres auch als das Wahrscheinlichere an. Über das Schicksal der von Jickeli beschriebenen Kopula wurde nichts bekannt.

Ich konnte vor oder bei den Kopulationsvorgängen von Difflugia urceolata nirgends ausgestoßene Bestandteile finden, welche man ev. mit Richtungskörperchen vergleichen könnte. Die Kopulation erfolgt seltener als im Herbst im Laufe des Sommers, sie geht dort wohl wahrscheinlich Teilungsvorgängen vorauf. Die Kulturen vermehren sich zeitweise massenhaft und die Schalen vieler Tiere trugen Zeichen, daß sie erst kurz gebildet worden sind.

Die Teilungen müssen sehr rasch ablaufen und gehen vermutlich nachts vor sich. Ich selbst habe keine Teilungen beobachtet und muß hierüber auf die Angaben von Verworn (1888) verweisen.

D. Die Plastogamie.

Die häufig in der Literatur als Konjugationsexemplare bezeichneten Difflugienpaare scheinen mir meist nur plastogamisch verbundene Paare zu sein. Schon Leclerc, welcher die Difflugien entdeckte, hat 1815 solche Zustände beobachtet und sie für Begattungserscheinungen gehalten. Plastogamien (Taf. X Fig. 12) treten sehr häufig und zu allen Jahreszeiten auf, viel häufiger als Konjugation und Kopulation. Was für Wirkungen sie auf die Tiere haben, weiß ich nicht. Daß sie aber Wirkungen haben und zwar auf das vegetative Leben der Tiere sogar recht bedeutsame, läßt sich wohl aus ihrem sehr häufigen Auftreten mit Sicherheit schließen. Mit der Fortpflanzung steht die Plastogamie sicher in keiner Beziehung.

Keinesfalls aber sind, weder bei Kopulation noch bei Konjugation der Difflugien, irgendwie geformte Mikronuclei vorhanden, wie Verworn (1890) dies von Difflugia lobostoma beschreibt und abbildet (Fig. 7—10). Es muß sich dort um einen Nahrungskörper gehandelt haben, welcher bei der typischen Plastogamie und nicht Konjugation, als welchen Verworn den von ihm abgebildeten Vorgang auffaßt, zufällig in die Nähe des Kernes zu liegen gekommen war.

E. Die Plasmakugeln.

Schließlich möchte ich noch darauf hinweisen, daß den regelmäßig auftretenden Plasmakugeln irgend eine besondere Bedeutung in der Entwicklung der Cysten von Difflugia zukommen muß. Die selben sind übrigens nicht nur für Difflugiencysten charakteristisch, ich fand fast ebensolche in Arcellacysten, und Scheel (1899) beschreibt ähnliche Gebilde auch aus den Cysten von Amoeba proteus

Digitized by Google

(s. seine Fig. 7 Taf. 51). Er schildert sie dort als „im Plasma deutlich konturierte, stark lichtbrechende größere Gebilde. Sie haben opakes Aussehen oder schwach grangrüne Farbe und erinnern bezüglich ihrer Färbbarkeit und ihres Aussehens an die sogenannten Eiweißkugeln der freien Amöben. Ihre Gestalt ist variabel, länglich-eiförmig bis kugelrund.“ Nachdem er durch mikrochemische Versuche festgestellt hatte, daß es eiweißartige Gebilde sind, fährt er fort: „Man hat sie wohl als eine Art aktiven Eiweißes aufzufassen, als Produkte des Stoffwechsels, die in dem Plasma der Cyste, morphologische Form annehmend, aufgespeichert werden, um später als Reservestoffe Verwendung zu finden. Tatsächlich sind sie bei sporulierenden Cysten nicht mehr nachweisbar, also wohl aufgebraucht worden. Manche dieser Gebilde enthalten verschieden große Einschlüsse, die mannigfaltige Gestalt haben und kugelig-rundlich, eckig, stäbchen-, halbmond- oder hufeisenförmig sein können. Sie lassen sich mit Eisenhämatoxylin sehr intensiv färben.“ Soweit Scheel. Diese Beschreibung trifft fast vollständig auch auf die Plasmakugeln von Difflugia urceolata und von Arcella zu.

Was Scheel unter den sogenannten Eiweißkugeln in freien Amöben versteht, ist mir nicht klar. Leider fehlt in seiner Arbeit jede genauere Angabe über die unencystierte Amoeba proteus, welche er untersuchte; nur die Cysten sind beschrieben. In unencystierten Amöben sind jedoch meines Wissens keine solchen freien Eiweißkugeln bekannt. Scheel beschreibt übrigens an einer anderen Stelle, daß die Kugeln bei der Encystierung der Amöbe nicht vorhanden, sondern erst später in den Cysten selbst auftreten, — also dasselbe Verhalten wie ich es in Difflugiencysten beobachtete. Ich halte es für wahrscheinlich, daß sie nicht nur in den Cysten von Arcella, Difflugia und Amoeba proteus, sondern auch denen anderer Süßwasserrhizopoden auftreten. Vermutlich kommt ihnen eine prinzipielle Bedeutung zu.

Auch Scheel bringt die Kugeln trotz der offenbar chromatischen Einschlüsse nicht in Beziehung zu Kernen. Wir sahen auch in der Difflugiencyste (Taf. XII Fig. 1 u. 2), daß sie sich aus dem Plasma bilden und daß die Chromidialsubstanz während ihrer Entstehung unverändert blieb.

Über die Bedeutung dieser Kugeln bin auch ich mir nicht klar. Daß sie als sogenanntes „aktives Eiweiß“ (im Scheel'schen Sinne), als Reservestoffe, dienen, will mir nicht einleuchten, auch sind in den Difflugiencysten anderweitige Reservestoffe, besonders die Kohlehydratkörner aus der Chromidialsubstanz, vorhanden, welche auf-

Digitized by Google

gebraucht werden. Die Plasmakugeln werden nicht aufgebraucht, sondern breiten sich offenbar wieder zu Plasma aus.

Ergebnisse.

1. Der Bau der Chromidialsubstanz bringt neue Beiträge zur Wabentheorie. Ihr färberisches Verhalten zeigt ihre Beziehung zu den Kernen, indem die Körnchen der Chromidialsubstanz sich ebenso verhalten wie die Kernbinnenkörper. Im Gegensatz zu den bisher bekannten Tatsachen stellte sich heraus, daß die Chromidialsubstanz befähigt ist, in ihrem Innern Körner eines Kohlehydrates zu bilden.

2. Im vegetativen Leben der Difflugien treten dreierlei Verschmelzungserscheinungen auf: die Plastogamie, die Konjugation und die Kopulation. Die Plastogamie hat auf die Fortpflanzung keinen Einfluß. Nach der Kopulation erfolgt Encystierung und scheint also die Kopulation hier ebenso wie in anderen Protozoenklassen wichtig für die Erhaltung der Art zu sein.

3. Nach erfolgter Kopulation, ehe die Encystierung beginnt, tritt aus den meisten Kernen Chromatin aus. Zuletzt sind nur noch zwei oder drei Kerne übrig, die anderen sind vollständig aufgelöst.

4. Die Cysten sind weder Schutz- noch Verdauungscysten, wie solche von Süßwassermonothalamien bekannt sind, sondern spielen im Entwicklungscyklus der Difflugien eine ähnliche Rolle, wie die aus Verschmelzung zweier Individuen hervorgegangenen Fortpflanzungscysten anderer Protozoenklassen. Sie treten regelmäßig im Spätherbst auf.

5. Das Plasma der Cysten bildet chromatinreiche Plasmakugeln, welche sich gegen Ende der Encystierungsperiode wieder zu homogenem Plasma ausbreiten. Die übrig gebliebenen Kerne, welche aus den unencystierten Difflugien stammen, zerfallen. Die Kohlehydratkörner der Chromidialsubstanz werden als Reservenahrung aufgebraucht. Aus den chromatischen Bestandteilen der Chromidialsubstanz werden die Kerne für die neue Generation gebildet.

Zum Schluß ist es mir eine angenehme Pflicht, meinem hochverehrten Lehrer Herrn Prof. O. Bütschli für seine ständige Hilfe und die gütige Unterstützung bei der Abfassung dieser Arbeit meinen aufrichtigsten Dank auszusprechen. Auch Herr Prof. A. Schuberg hat mich durch wertvolle Ratschläge besonders verpflichtet.

Heidelberg, März 1904.

Digitized by Google

Literaturverzeichnis.

1892. Blanc, H.: Les Difflugies de la Faune profonde du Lac Léman. Recueil inaugural de l'Université Lausanne.

1887. Blochmann, F.: Zur Kenntnis der Fortpflanzung von Englypha alveolata. Morph. Jahrb. Bd. 13.

1875. Bütschli, O.: Zur Kenntnis der Fortpflanzung bei Arcella vulgaris. Arch. f. mikr. Anat. Bd. XI p. 459—467.

1885. —: Bemerkungen über einen dem Glykogen verwandten Körper in den Gregarinen. Zeitschr. f. Biol. Bd. 21.

1896. —: Weitere Ausführungen über den Bau der Cyanophyceen und Bakterien.

1903. —: Untersuchungen über Amylose und amyloseartige Körper. Verh. d. naturhist.-med. Vereins zu Heidelberg Bd. VII Heft 3.

1898. Hertwig, R.: Über Kernteilung, Richtungskörperbildung und Befruchtung von Actinosphaerium Eichhorni. Abh. d. Bayr. Akad. Wiss. Math.-phys. Kl. Bd. 19.

1899. —: Über Encystierung und Kernvermehrung bei Arcella vulg. Festschrift für C. v. Kupffer.

1902. —: Die Protozoen und die Zelltheorie. Arch. f. Protistenk. Bd. I.

1901. Jawornowsky, A.: Przyzynek do znaiamosei Roznmazamia Roznozek slodkomodnych. Lwow. Nakladem Redakryi. Kosmosn. (Beitrag zur Vermehrungsweise der Süßwasserrhizopoden.)

1884. Jickeli, F.: Über Kopulation von Difflugia globulosa. Zool. Anz. No. 174.

1815. Leclerc, M.: Über die Difflugia, neue Sippe von ungestaltigen Polypen. Isis 1817.

1891. Rhumbler, L.: Beiträge zur Kenntnis der Rhizopoden I. Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. 52.

1895. —: Beiträge zur Kenntnis der Rhizopoden III, IV, V. Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. 61.

1898. —: Zellleib, Schalen- und Kernverschmelzungen bei Rhizopoden. Biol. Zentralbl. Bd. 18.

1899. Schaudinn, F.: Untersuchungen über den Generationswechsel von Trichosphaerium Sieboldi Schn. Abh. d. k. Akad. d. Wiss. Berlin.

1903. —: Untersuchungen über die Fortpflanzung einiger Rhizopoden. Arbeiten aus dem kaiserl. Gesundheitsamte Bd. 19 Heft 3.

1899. Scheel, C.: Beiträge zur Fortpflanzung der Amöben. Festschrift für C. v. Kupffer.

1888. Verworn, M.: Biologische Protistenstudien I. Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. 52.

1890. —: Biologische Protistenstudien II. Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. 61.

1885. Zacharias, E.: Über den Nucleolus. Botan. Zeitung No. 17.

1896. Zettnow: Bilder von Spirillum undula minus bei freiwilligem Absterben. Zentralbl. f. Bakt., Parasitenk. u. Infektionskrankh. Bd. 29.

1897. —: Über den Bau der großen Spirillen. Zeitschr. f. Hygiene u. Infektionskrankheiten Bd. 24.

Tafelerklärung.

(Tafel X—XII.)

Die Figuren wurden mit einem Zeiss'schen Mikroskop und dem Abbé'schen Zeichenapparat auf Objekttischhöhe entworfen.

SJ Seibert'sche apochrom. homog. Immersion 2 mm. A, D, F die achromatischen Zeiss'schen Objektive.

CO Zeiss' Kompensationsokular.

HO Huygen'sches Okular.

Die Schale wurde auf den Zeichnungen meist fortgelassen.

Die Zeichnungen wurden, wo nichts anderes bemerkt ist, nach Präparaten von Difflugia urceolata angefertigt, welche in Paraffin geschnitten und in Kanadabalsam eingeschlossen worden waren.

Für alle Figuren gültige Bezeichnungen:

alv Alveolarsaum.
bk Binnenkörper.
chr Chromatin.
chrs Chromidialsubstanz.
f Fäden der kernspindelähnlichen Gebilde.
fh Struktur in den Höfen der Chromidialsubstanz.
g Gerüst der Chromidialsubstanzhüllen, Zwischensubstanz.
gk Kohlehydratkorn der Chromidialsubstanz.
gr Granula des Plasmas.
h Hof zwischen Kohlehydratkorn und Wandung der Chromidialsubstanz.
k Kern; *kk* neue Kerne.
kg Kerngerüst.
km Kernmembran.
m Membran.
n Nahrungskörper.
nv Nahrungsvakuole.
pi Inhaltsgebilde der Plasmakugeln.
pk Plasmakugeln.
pl Plasma.
s Schale.
sp Schalenplättchen.
v Vakuole.
w Cystenwand.

Tafel X.

Fig. 1. Difflugia (Mai). Chromosminmessigsäure. Safranin Blen-de-Lyon. D. HO_2 (220). Tier vom Frühling. Chromidialsubstanz sehr stark färbbar.

Fig. 1a. Chromidialsubstanz desselben Tieres stärker vergrößert. SJ, CO_{12} (1500). Bau der Chromidialsubstanz im Frühling; kompakt, von unregelmäßigen Vakuolen durchsetzt. Vakuoleninhalt ungefärbt.

Fig. 2. Chromidialsubstanz (Juli). Sublimat, Alkohol. Safranin Bleu-de-Lyon. SJ, CO_{12} (1500). Zeigt fortgeschrittene Vakuolisation der Chromidialsubstanz; Vakuolen größer und regelmäßiger; Vakuoleninhalt ungefärbt.

Digitized by Google

Fig. 3a u. b. Chromidialsubstanz (Ende Oktober). Chromosminessigsäure. Safranin/Bleu-de-Lyon. SJ, CO_{12} (1500). Noch weiter fortgeschrittene Vakuolisation der Chromidialsubstanz. Der Inhalt der Vakuolen hat sich diffus mitgefärbt. Das Chromatin ist auf eine geringe Zwischensubstanz zwischen den Vakuolen reduziert.

Fig. 3c. Dasselbe Präparat, dasselbe Tier wie 3a, mit Safranin, Gentianaviolett, Orange (Flemming) nachgefärbt. SJ, CO_{12} (1500). Im Vakuoleninhalt ist das Kohlehydratkorn durch Färbung mit Gentianaviolett deutlich geworden (*gk*), um dasselbe herum der helle Hof (*h*). Die Gerüstsubstanz (*g*) schmal, läßt eingelagerte Chromatinkörnchen erkennen; in den Knotenpunkten Verdickungen.

Fig. 3d. Dasselbe Präparat, anderes Tier, SJ, CO_{12} (1500). Zeigt die Gerüstsubstanz etwas reichlicher vorhanden. Chromatinkörnchen so dicht zusammengelagert, daß die Zwischensubstanz fast homogen erscheint. Verdickungen in den Knotenpunkten. *a* eine isolierte Chromidialsubstanzhohlkugel, zeigt Inhalt, Hof und Hülle.

Fig. 4. Chromidialsubstanz (Anfang November). Mit Flemming konserviert und gefärbt. SJ, CO_{12} (1500). In den Höfen ist eine matte Struktur zu erkennen (*fh*), wohl eine optische Erscheinung; die Gerüstsubstanz massig und homogen erscheinend.

Fig. 5. Kohlehydratkörner aus der Chromidialsubstanz; lebend zerquetscht, in Kalilauge isoliert und mit Jodjodkalium behandelt. Zeigt die unregelmäßige Form derselben.

Fig. 6a u. b. Lebende Kerne aus demselben Tier. SJ, CO_8 (1000). Dicke Membran, ungleich verteilte Binnenkörper.

Fig. 6c. SJ, CO_{12} (1500). Binnenkörper aus denselben Kernen; zeigen Vakuolisation.

Fig. 7. Kern aus Difflugienschnitt. Sublimat, chromsaures Kali/Hämatoxylin; in Glycerin untersucht. SJ, CO_{12} (1500). Läßt das Kerngerüst erkennen, das am Rande einen Alveolarsaum bildet. Wenige und größere Binnenkörper.

Fig. 8. Difflugia (November). Schnitt quer durch die untere Partie des Tieres. Flemming. Safranin, Bleu-de-Lyon. D. HO_2 (220). Chromidialsubstanz hat sich stark ausgebreitet und ist schwächer färbbar als im Frühjahr (s. Fig. 1); sie ist kohlehydrathaltig. Die große Masse der Kerne und der Chromidialsubstanz deutet darauf hin, daß das Tier aus der Kopulation hervorgegangen ist.

Fig. 9a—e. Flemming konserviert und gefärbt. SJ, CO_{12} (1500). Spindelartige Gebilde; vermutlich Bakterienfäden.

Fig. 9a. Knäueliges Gebilde; aus Difflugia vom Dezember.

Fig. 9b. Spindel aus Tier vom Juni; zeigt an den Enden der Fäden stark rote Färbung, vermutlich dort die Fäden im optischen Querschnitt.

Fig. 9c. Spindel aus Tier vom Mai; zeigt dieselben roten Stellen wie b.

Fig. 9d. November; sehr kernspindelähnlich.

Fig. 9e. November; in einer Vakuole inmitten der Chromidialsubstanz.

Fig. 10 u. 11. Kopulation. Flemming konserviert; Safranin/Bleu-de-Lyon. D. HO_1 (175). November.

Fig. 10. Beginn der Kopulation; Tier *α* beginnt in Tier *β* überzufließen; Tier *β* ruhig und unverändert. In Tier *α* die Chromidialsubstanz (*chrs*) in viele kleine Brocken zerspalten; dazwischen Kerne und Nahrungskörper. Ein breiter Streifen homogenen Plasmas am Fundus der Schale von Tier *α* gebildet. In beiden Tieren Vakuolen und Nahrungsreste. Flemming. Safranin/Bleu-de-Lyon. D. HO_1 (175). November.

Digitized by Google

Fig. 11. Fortgeschrittene Kopulation. Tier *α* fast ganz in Tier *β* übergeflossen. Chromidialsubstanz schon größtenteils miteinander verschmolzen. In der Schale von Tier *α* noch ein breiter Lappen von homogenem Plasma. Im Plasma beider Tiere zahlreiche kleine Plasmakugeln (*pk*).

Fig. 12. Plastogamie (Juni). Flemming. Safranin Bleu-de-Lyon. D. HO_1 (175). In beiden Tieren Chromidialsubstanz und Lage der Kerne und Nahrungskörper unverändert. In dem Tier *β* zahlreiche Schalenplättchen (*sp*) vorhanden.

Tafel XI.

Alle Abbildungen, bei denen nichts besonderes bemerkt ist, sind nach Präparaten angefertigt, welche mit Safranin/Bleu-de-Lyon gefärbt worden sind.

Fig. 1. Konjugation dreier Tiere (Juli). Sublimat/Alkohol. D. HO_1 (175). Chromidialsubstanz aller drei Tiere (*chrs*) in kleine Brocken zerspalten, im Austausch untereinander. An der Grenze zwischen den Tieren Kerne und Chromidialsubstanz. Im Plasma viele ungleich große blasse Plasmakugeln (*pk*). Zahlreiche Vakuolen (*v*) und Nahrungsvakuolen (*nv*).

Fig. 1a. Teile der Chromidialsubstanz derselben Tiere. SJ, CO_{12} (1500). Sie ist ziemlich stark vakuolisiert, durch die Strömung in kleine Teile zerspalten und die zähflüssige Grundsubstanz (*g*) in Brücken ausgezogen.

Fig. 1b—e. SJ, CO_8 (1000). Kerne aus den drei verbundenen Tieren stärker vergrößert. Die Kernmembran (*km*) ist bei all diesen Kernen sehr verdünnt; bei *km 1* ist sie fast verschwunden.

Fig. 1b. Binnenkörper (bk^1) tritt aus dem Kern; die als *chr* bezeichnete stark gefärbte Masse läßt nicht erkennen, ob es sich um Chromatin des Binnenkörpers oder der Chromidialsubstanz handelt. Die Chromidialsubstanz liegt den Kernen dicht an.

Fig. 1c. Kernmembran sehr verdünnt; Chromidialsubstanz liegt dem binnenkörperarmen Kern sehr dicht an und läßt nicht erkennen, ob das mit *chr* bezeichnete Chromatin Binnenkörpermasse oder Gerüstsubstanz der Chromidialsubstanz darstellt.

Fig. 1d. Ein großer Binnenkörper (*bk 1*) tritt aus dem Kern nahe der Chromidialsubstanz; gegenüber treten zwei kleine Binnenkörper (*bk*) aus, nicht im Zusammenhang mit der Chromidialsubstanz. *chr* bezeichnet Chromatin, dessen Herkunft aus Kern oder Chromidialsubstanz fraglich.

Fig. 1e zeigt zwei aus dem Kern getretene Binnenkörper (*bk 1* und *bk 2*), nicht im Zusammenhang mit der Chromidialsubstanz. An der Stelle *chr* liegt die Chromidialsubstanz dem Kern dicht an; es ist nicht zu entscheiden, ob dort Chromatin aus dem Kern liegt.

Fig. 2. Kern aus einem Kopulationsexemplar vom Juni. Flemming. SJ, CO_{12} (1500). Kernmembran sehr verdünnt. Binnenkörper (*bk*) teilweise aus mehreren zusammengeflossen. Chromidialsubstanzteile (*chrs*) in Kernnähe. Bei *chr* Binnenkörper oder Chromatin der Chromidialsubstanz.

Fig. 3. Kern aus einem Tiere, das gehungert hatte und ganz aus der Schale geflossen war. Flemming. SJ, CO_8 (1000). Sternförmige Anlagerung der Chromidialsubstanz (*chrs*) an den Kern; Membran (*km*) unverändert.

Fig. 4a—e. Kernveränderungen bei unverdünnter Membran aus verschiedenen einzelnen Difflugien (November). SJ, CO_8 (1000). Zwei Kerne aus demselben Tier. Pikrinessigsäure.

Digitized by Google

Fig. 4a. Ein Binnenkörper (*bk*) liegt der verdünnten Membran des linken Kernes ausnahmsweise dicht an. (*chr*) Chromatin liegt eine Strecke weit in der unverdünnten Kernmembran des rechten Kernes. Flemming.

Fig. 4b. Vier Binnenkörper (*bk*) liegen in der Kernmembran. Kern liegt in einer Nische der Chromidialsubstanz. Flemming.

Fig. 4c. Kern ärmer an Binnenkörpern; Chromatin (*chr*) in der Kernmembran. Pikrinessigsäure.

Fig. 4d. Kern binnenkörperarm. Membran unverdünnt. Kern liegt nahe an der Chromidialsubstanz. Pikrinessigsäure.

Fig. 4e. Kern ohne Binnenkörper. Der Chromidialsubstanz (*chrs*) dicht anliegend.

Fig. 5a—i. Kernveränderungen mit Membranverdünnung (November). SJ, CO_2 (1000).

Fig. 5a. Pikrinessigsäure. Zwei Kerne aus demselben Tier. Die Chromidialsubstanz liegt den Kernen dicht an den verdünnten Stellen an; bei *km 1* ist die Membran verdünnt.

Fig. 5b. Flemming. Zwei Kerne aus demselben Tier. Kernmembran von Kern 2 bei *km 1* verdünnt; ein Binnenkörper (*bk 1*) im Begriff, aus dieser Stelle aus dem Kern zu treten. Am Kern 1 Kernmembran ringsum verdünnt. Zwei Binnenkörper (*bk 2*) sind an der verdünnten Stelle (*km 1*) ausgetreten. Bei *chr* liegt beiden Kernen etwas Chromatin an, das von Binnenkörpern oder Chromidialsubstanz stammt.

Fig. 5c. Flemming. Beide Kerne vom selben Tier. Kernmembran an beiden Kernen eine Strecke weit verdünnt (*km 1*). Verschiedene Binnenkörper *bk 1* und *bk 2*) im Begriff, auszutreten.

Fig. 5d. Kernmembran rings verdünnt. Chromidialsubstanz (*chrs*) liegt den Kernen dicht an.

Fig. 5e. Kernmembran enthält an einer Stelle (*chr*) Chromatin; an einer anderen ist sie verdünnt (*km 1*).

Fig. 5f. Kernmembran an zwei Stellen verdünnt (*km 1* u. *km 2*), an einer solchen Stelle ist ein Binnenkörper (*bk 1*) eben ausgetreten, ein zweiter (*bk 2*) scheint zu folgen.

Fig. 5g. Kernmembran (*km 1*) verdünnt. Dort tritt ein Binnenkörper (*bk 2*) aus, ein zweiter liegt schon draußen (*bk 1*). In der Chromidialsubstanz, die dem Kerne anliegt, liegt ein Chromatinbrocken (*chr*) von binnenkörperartigem Aussehen.

Fig. 5h. Kernmembran an einer Stelle verdünnt (*km 1*). Im Kern nur noch zwei Binnenkörper. Chromidialsubstanz liegt dem Kern direkt an.

Fig. 5i. Kernmembran an einer Stelle (*km 1*) verdünnt. Im Kern nur noch ein Binnenkörper (*bk*), der verdünnten Membran anliegend.

Fig. 6. Ein unveränderter Kern aus demselben Tier wie der Kern auf Fig. 5i. Mehrere Binnenkörper verschmolzen (*bk*). SJ, CO_2 (1000).

Fig. 7. HO_2 (220). Difflugia kurz vor ihrer Encystierung. Sublimat/Alkohol. Eisessig. Nahrungskörper (*n*) werden nach außen befördert. Chromidialsubstanz (*chrs*) ganz zusammenhängend, wenig Plasma (*pl*), rund um das Tier ein Plasmastreifen (*pl*).

Fig. 7a. SJ, CO_2 (1000). Teil desselben Tieres. Flemming nachgefärbt. Kernmembran an einer Stelle verdünnt (*km 1*). In der Chromidialsubstanz die Kohlehydratkugeln durch Gentianaviolett deutlich geworden. Die Chromidialsubstanz (*chrs*) bildet keinen Alveolarsaum, sondern die einzelnen Kugeln ragen unregelmäßig ins Plasma (*pl*) vor.

Tafel XII.

Alle Figuren, bei denen nichts anderes bemerkt ist, sind nach Difflugiencysten angefertigt, welche nach Flemming gefärbt worden sind.

Fig. 1. Ganz junge Cyste. D. HO_2 (220). Pikrinessigsäure. Zentral zusammenhängende Chromidialsubstanz, deren feinerer Bau unverändert wie in uncucystierten Tieren vom Herbst (wie Fig. 9a). Im peripheren Plasma beginnen sich Plasmakugeln (*pk*) zu bilden. Im Plasma zwei alte Kerne (*k*) degenerierend und Chromatinbrocken (*chr*) von unbestimmter Herkunft.

Fig. 2. Etwas ältere Cyste. Flemming. Randpartie. SJ, CO_6 (750). Bildung der Plasmakugeln (*pk*), in denselben oft vakuolisierte Inhaltsgebilde (*pi*). Die Plasmakugeln beginnen in die Chromidialsubstanz (*chrs*), deren Bau unverändert ist, einzuwandern wie auf Fig. 9a.

Fig. 3. Flemming. D. HO_2 (220). Die Plasmakugeln (*pk*) sind ganz in die Chromidialsubstanz (*chrs*) eingewandert und dort verteilt. Auf einem anderen Schnitt desselben Tieres zwei zerfallende Kerne. Chromidialsubstanz unverändert wie auf Fig. 9a.

Fig. 4. Pikrinessigsäure. SJ, CO_6 (750). Teil aus der Mitte des Schnittes. Das Chromatin des Gerüstes der Chromidialsubstanz (*chr*) hat begonnen zusammenzufließen. Kohlehydratkörner (*gk*) unverändert. Diese Cyste enthält auf einem anderen Schnitte drei zerfallende Kerne. (Chromidialsubstanz stärker vergrößert s. Fig. 9d).

Fig. 5. Flemming. SJ, CO_6 (750). Teil aus der Mitte des Schnittes. Zusammenfließen des Chromatins (*chr*) der Chromidialsubstanz ist fortgeschritten; Kohlehydratkörner (*gk*) unverändert. Zwischen ihnen achromatische Gerüstsubstanz. An einem Rande liegt ein Streifen granulierten Plasmas, welcher durch eine feine Membran vom übrigen Cysteninhalt abgegrenzt ist. Plasmakugeln unverändert. (Chromidialsubstanz stärker vergrößert Fig. 9d).

Fig. 6. Pikrinessigsäure. SJ, CO_6 (750). Teil aus der Mitte des Schnittes. Blasses Grundplasma (*pl*), in welchem sich noch die Kohlehydratkörner (*gk*) befinden; Plasmakugeln (*pk*) weniger und kleiner. Das Chromatin aus der Chromidialsubstanz (*chr*) beginnt sich zu vakuolisieren.

Fig. 7. Pikrinessigsäure. D. HO_2 (220). Kern (*k*) membranlos; Plasmakugeln ganz aufgelöst, viel fein granuliertes Grundplasma (*pl*), welches teilweise kugelig noch auf seine Bildung aus den Plasmakugeln hinweist. An einem Rande eine stark granulierte Plasmazone, welche mit dem übrigen Plasma in direkter Verbindung steht.

Fig. 7a. Partie derselben Cyste. SJ, CO_6 (750) zeigt dieselben Verhältnisse deutlicher.

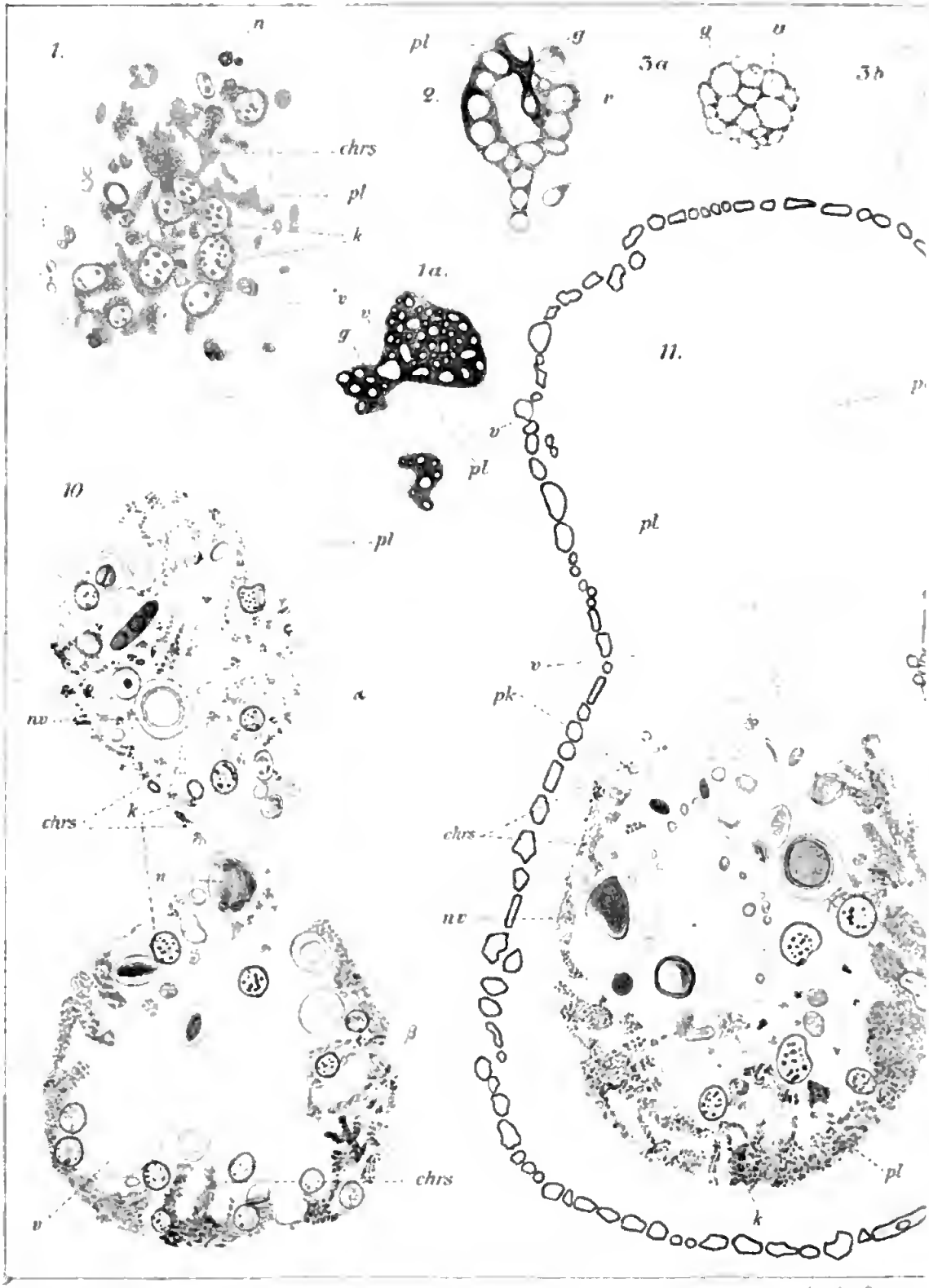
Fig. 8. Pikrinessigsäure. D. HO_2 (220). Ein membranloser Kern (*k*). Chromidialsubstanzchromatin (*chr*) zerklüftet; Plasmazone am Rand nicht mehr vorhanden; die Granula (*gr*) derselben in der ganzen Cyste verteilt.

Fig. 8a. Teil derselben Cyste. SJ, CO_6 (750). Zeigt die Zerklüftung des Chromatins und seine Abkugelung in einzelne vakuolisierte Kugeln; einzelne Kugeln haben eine kernartige Struktur im Innern. Beginn des Auftretens der neuen Kerne (*kk*). (stärker vergrößert Fig. 9f).

Fig. 9a—f. Chromidialsubstanz. SJ, CO_{12} (1500). Entwicklung der neuen Kerne. Pikrinessigsäure.

Fig. 10. F. HO_1 (415). Reste des Chromatins in Kugeln (*chr*); viele neugebildete kleine Kerne (*kk*); Grundplasma reich granuliert.

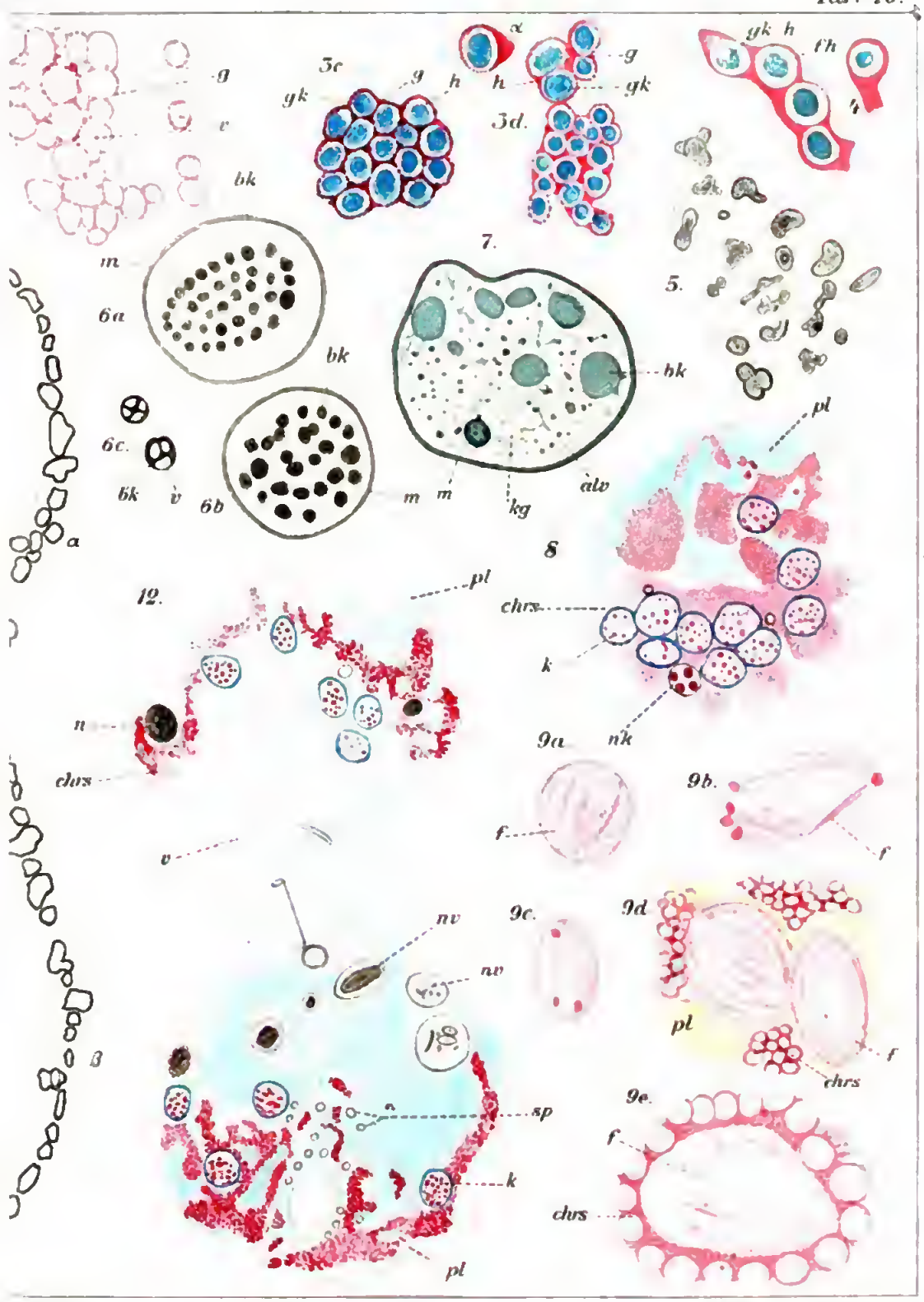
Digitized by Google



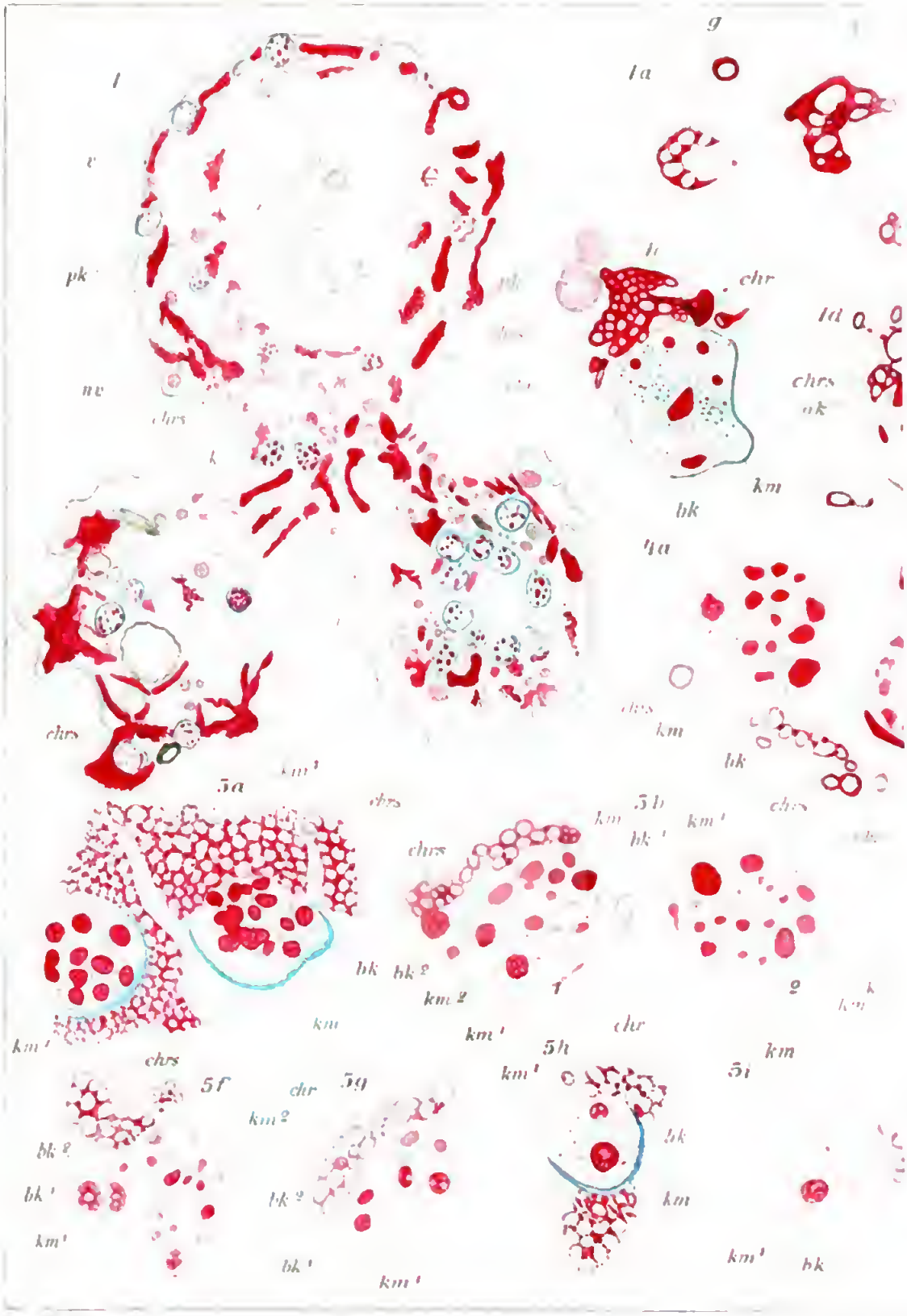
Zu Seite 162

Verl. v. Gustav

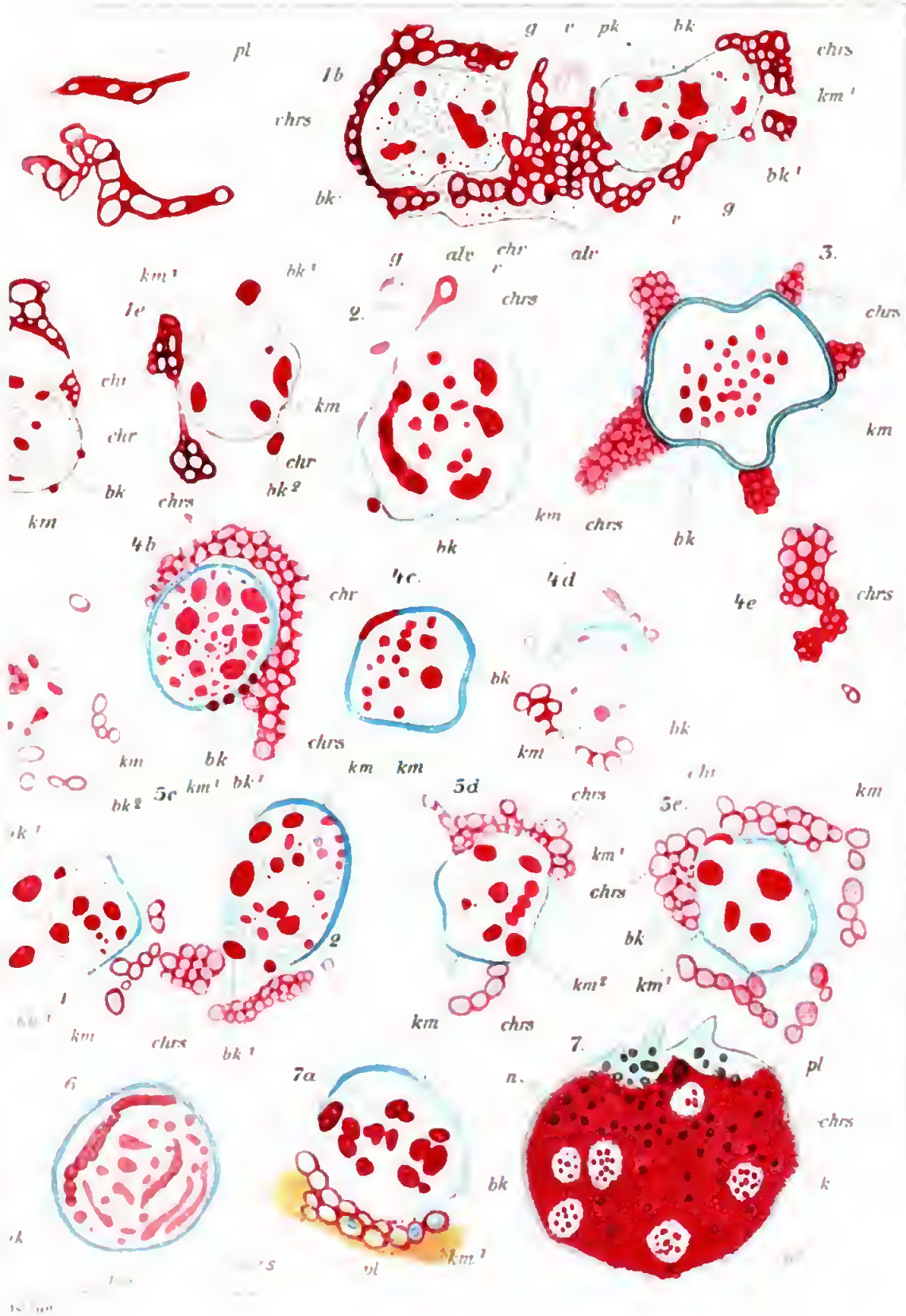
Digitized by Google

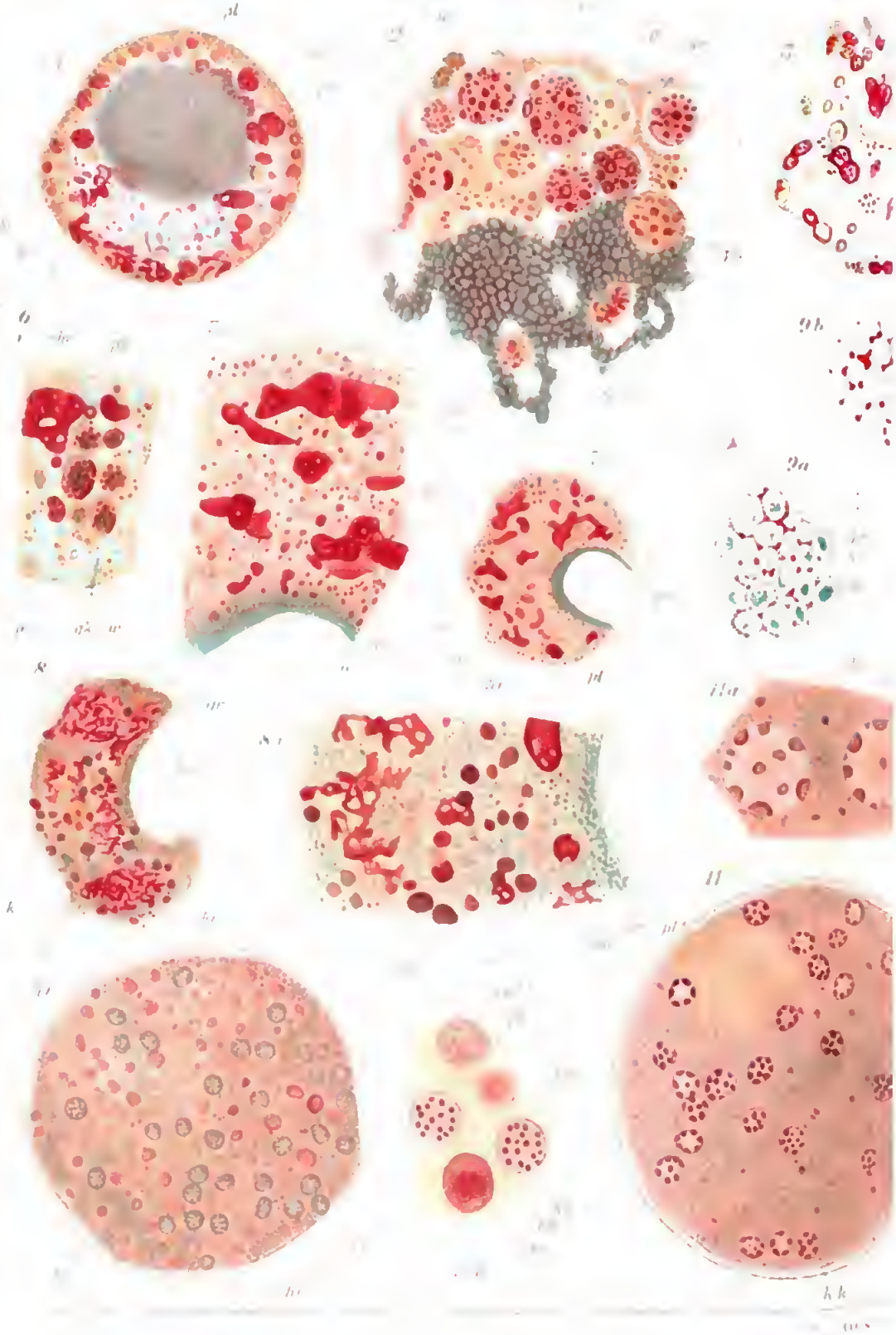

g
v
bk
3c
g
gk
h
α
h
g
gk
3d.
gk
h
th
4
m
6a
bk
7.
bk
5.
6c.
6k
v
6b
m
m
kg
alv
pl
8
a
12.
pl
chrs
k
n
nk
chrs
9a
9b.
f
f
v
nv
nv
9c.
9d
pl
f
chrs
β
sp
k
9e.
f
chrs
pl

ischer Jena

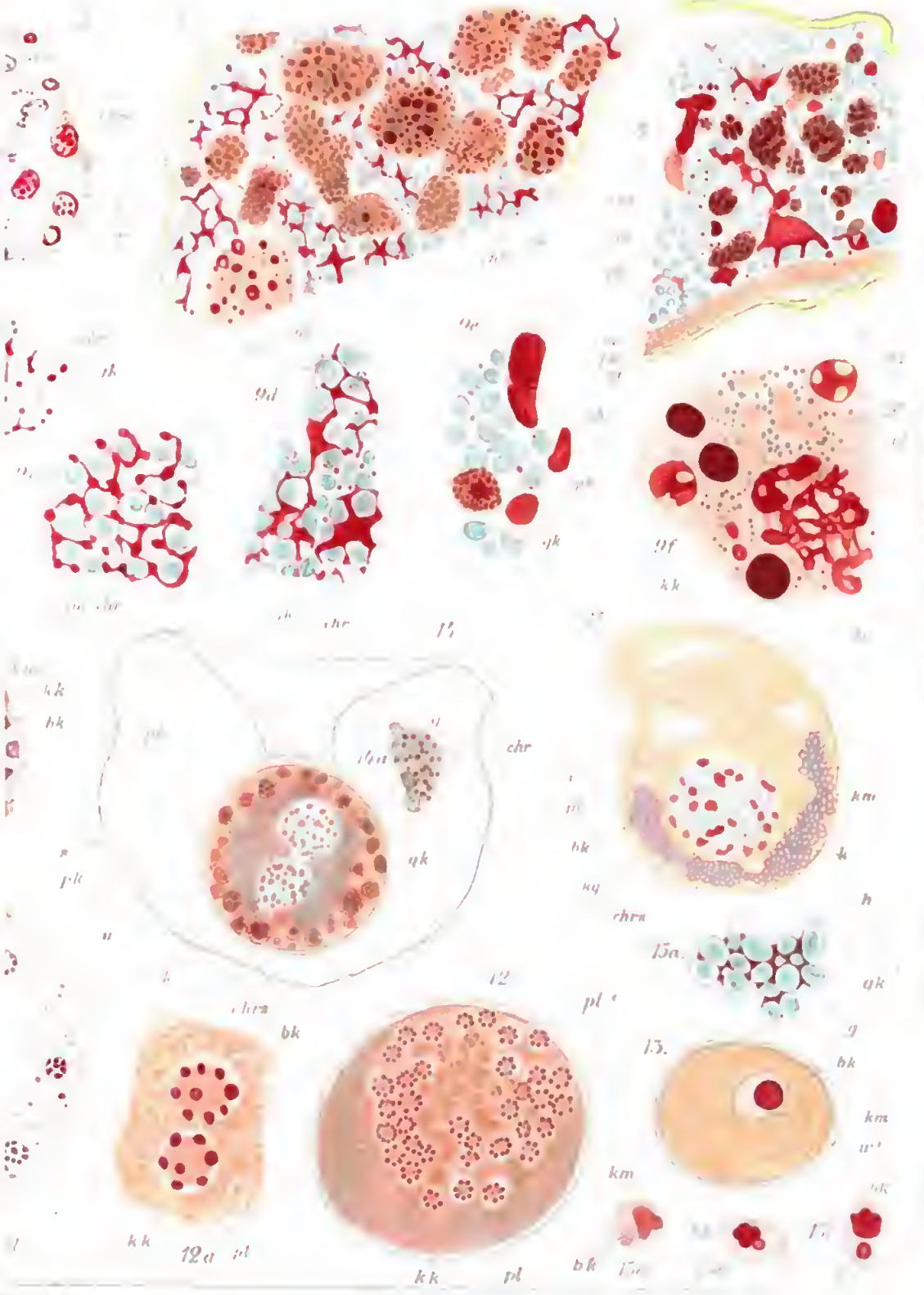


Digitized by Google


pl
1b
chrs
bk
g
v
pk
bk
chrs
km¹
bk¹
g
alv
chr
alv
3.
km¹
bk¹
1e
2.
chrs
chrs
chr
km
chr
chr
bk
chrs
bk²
km
km
chrs
bk
4b
bk
4c.
4d
4e
chrs
chr
bk
km
bk
chrs
km
km
km
bk
bk²
5c
km¹
bk¹
5d
chrs
5e.
km
km¹
chrs
bk
km²
km¹
km
chrs
bk¹
7.
6
7a
n.
pl
chrs
bk
k
km¹
vl



Digitized by Google



Digitized by Google

Fig. 10a. Teil derselben Cyste. SJ, CO_{12} (1500). Kerne zeigen dünne Membran (*km*) und viele kleine Binnenkörper (*bk*); einen Kern (*kk 1*) sieht man aus einer Chromatinkugel sich bilden; außerdem noch zwei unveränderte Chromatinkugeln.

Fig. 11. Flemming. F. HO_1 (415). Die Chromatinkugeln sind aufgebraucht; viele Kerne (*kk*) und feingranuliertes Plasma; Plasma (*pl 1*) an einer Stelle fast homogen.

Fig. 11a. Teil derselben Cyste. SJ, CO_{12} (1500). Kerne haben dünne Membran, dieser sitzen die Binnenkörper zum Teil von innen an. Im granulierten Plasma etliche größere chromatinartige Granula (*chr*).

Fig. 12. Flemming. F. HO_1 (415). Plasma peripher chromatinreicher und granuliert; zentral homogener (*pl 1*). In dem zentralen Teil die vielen Kerne, von denen jeder von einem kleinen Hof umgeben ist.

Fig. 12a. Teil stärker vergrößert; die Binnenkörper (*bk*) der Kerne (*kk*) liegen teilweise sehr peripher und springen etwas vor.

Fig. 13. Flemming. SJ, CO_{12} (1500). Wahrscheinliche Sekundärcyste. Kern dünne Membran; hier nur ein Binnenkörper.

Fig. 13a—c. SJ, CO_{12} (1500). Kerne anderer Sekundärcysten. Fig. a u. c zeigen zwei Binnenkörper (*bk*), b das Zusammenfließen eines großen solchen aus mehreren kleineren.

Fig. 14. Arcellacyste (November). Pikrinessigsäure. Flemming gefärbt. SJ, CO_4 (500). Zentral zusammenhängendes Chromidialsubstanznetz (*chrs*), in demselben zwei degenerierende Kerne; peripheres Plasma mit vielen inhaltsreichen Plasmakugeln (*pk*).

Fig. 14a. Chromidialsubstanz. SJ, CO_{12} (1500). Zeigt alveolären Bau.

Fig. 15. Lecquerensia spiralis. SJ, CO_4 (500). Sublimat/Alkohol. Eisessig. Flemming gefärbt. Oktober. Der große Kern (*k*) hat eine sehr dünne Membran (*km*); die Chromidialsubstanz (*chrs*) zusammenhängend.

Fig. 15a. Chromidialsubstanz stärker vergrößert. SJ, CO_{12} (1500). Zeigt alveolären Bau; in jedem Wabeninhalt ein mit Gentianaviolett blau gefärbtes Kohlehydratkorn.

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: Archiv für Protistenkunde

Jahr/Year: 1904

Band/Volume: 4_1904

Autor(en)/Author(s): Zuelzer Margarete

Artikel/Article: Beiträge zur Kenntnis von Difflugia urceolata Carter.

240-295