

*Nachdruck verboten.
Übersetzungsrecht vorbehalten.*

Material zum Studium der Cysten der Hypotrichen.

Von

S. A. Ilowaisky †.

(Hierzu 4 Textfiguren und Tafel 5–6.)

Inhaltsübersicht.

	Seite
Einleitung	92
I. Cysten	95
II. Chemischer Bestand der Cystenwänden	103
III. Plasmolyse der Cysten	110
IV. Bestimmung des osmotischen Druckes	120
V. Eigenschaften der Intimocyste	124
VI. Kernprozesse	130
VII. Folgerungen	132

Einleitung.

In meiner Arbeit „Die Morphologie des Prozesses der Cystenbildung“ beschrieb ich ¹⁾ den gegenwärtigen Zustand unserer Kenntnisse über die Cysten der Infusorien und war genötigt zu konstatieren, daß unsere Kenntnisse auf diesem Gebiet, trotz einer ziemlich großen Anzahl von Arbeiten, hauptsächlich älterer Untersucher, nur als recht begrenzte anerkannt werden können.

Es muß angemerkt werden, daß im größten Teile der neueren Arbeiten (NERESHEIMER, DOFLIN, FERMOR, FAURÉT-FREMIET, GOODEY, PUSCHKAREW) die Aufmerksamkeit der Untersucher der Kern auf

¹⁾ Tageblatt Zool. Abt. Russ. Gesellschaft der Antrop., Naturwiss. u. Ethnographie N. S. Bd. 2 p. 185 1915.

sich lenkt, seine Metamorphosen, die Möglichkeit eines sexualen Prozesses in der Cyste usw. Ganz besonders Interesse haben für uns die Arbeiten von GOODEY¹⁾. Zur Analyse seiner Angaben kehren wir später zurück beim Darlegen unserer Beobachtungen über die Wirkung einiger Reagentien auf die Hüllen der Cysten von *Stylonychia mytilus*. Soweit ich urteilen kann, erschienen während den allerletzten Jahren keine Arbeiten, welche ausschließlich dem Studium der Cysten der Infusorien gewidmet wären. Wie früher bleibt für uns noch vieles in dem Prozesse der Cystenbildung selbst, in den Arten des Abteilens der Hüllen (ihrer Bildung entsprechend) in der funktionellen Bestimmung der Cysten, in den Kernveränderungen, besonders bei den Schutzcysten, unbegreiflich, nicht aufgeklärt und viele Fragen sind noch gar nicht berührt.

In der oben zitierten Arbeit kam ich zur Überzeugung, daß man die Schutzcysten der Ciliata in zwei Gruppen einteilen kann. Zum Grund dieser Einteilung nahm ich die Art des Abteilens der Hülle (Ectocyste). Ich beeile mich anzugeben, daß dies Schema nur eine praktische Bedeutung hat und nur zum Zweck einer recht groben Klassifikation der Cysten tauglich ist. Es ist selbstverständlich, daß hier die Rede nicht von einer Bildung der Hülle, sondern eher von ihrer Trennung vom Protoplasma ist. Allenfalls scheint es mir nicht zwecklos, auf diesen auffälligen Unterschied im Konstruieren der ersten Hülle²⁾ hinzuweisen und auf die daraus folgende Möglichkeit die Mehrzahl von Cysten der Infusorien in zwei Gruppen einzuteilen, wie es von mir auch vorgeschlagen wurde (l. c. p. 185—86—87) — *Holotricha* und *Heterotricha* einerseits, und *Hypotricha* und *Peritricha* andererseits. Ich zweifle nicht, daß dies Schema verändert und ergänzt oder sogar ganz verworfen werden kann, entsprechend dem Zuwachs der Anzahl von genau untersuchten Fällen des Encystierens; gegenwärtig aber halte ich mich doch an dieses Schema, indem ich über ein Beobachtungsmaterial von der Cystenbildung bei mehr als 20 verschiedenen Arten von Infusorien verfüge. Weiterhin haben wir, entsprechend den Literaturangaben³⁾ und unseren Beobachtungen angenommen, daß die Schutzcysten zwei Hüllen besitzen — eine äußere (Ectocyste) und eine innere (Entocyste). Die Existenz zweier Hüllen ist in der Tat

¹⁾ Mit den Arbeiten dieses Autors wurden wir leider erst dann bekannt, als unsere eigenen Beobachtungen schon beendet waren.

²⁾ Die zweite Hülle bildet sich, soweit ich urteilen kann, bei allen Infusorien egal.

³⁾ Ich beachtete nur die mehr oder weniger genau studierten Cysten der Infusorien.

durchaus charakteristisch für die Schutzcysten. Einigen Autoren (FABRE-DOMERGUE) gelang es manchmal drei und sogar vier Hüllen von demselben Aussehen, wie die zweite¹⁾ bei Infusorien, die normal zwei Hüllen bilden, zu sehen. Aber diese Beobachtungen müssen als Ausnahmen betrachtet werden und solche Cysten muß man als seltene Ausartungen ansehen. Vor kurzem hat SOKOLOW²⁾ solche Ausartungen bei *Gastrostyla steinii* beschrieben. Leider übersah SOKOLOW die echte Entocyste in den Cysten von *Gastrostyla*, welche dicht an der ersten Hülle liegt³⁾. Seine Zeichnung, welche die „normale Cyste“ von *Gastrostyla steinii* wiedergibt, stellt eigentlich eine nicht ganz vollendete Cyste dar, welche nur die erste Hülle ausgeschieden hat, — eine Cyste, in welcher die Prozesse der morphologischen Umgruppierung einzelner Elemente des Protoplasmas noch im vollen Gange sind, was deutlich aus dem vakuolären und körnigen Aussehen des Protoplasmas sowie auch aus den Umrissen des Kernes folgt. In einer vollkommen fertigen Cyste ist das Plasma feinkörnig und hat einen matten Glanz. Außerdem erklärt SOKOLOW die Definierungen von FABRE-DOMERGUE nicht ganz richtig. Somit können wir annehmen, daß außer wenigen möglichen Ausnahmen die Schutzcysten der Infusorien normal zwei Hüllen haben. Später

¹⁾ Ich kann meinerseits hinzufügen, daß ich auch solche Cysten beobachtet habe.

²⁾ SOKOLOW, D. F.: Bildung der sekundären Cysten bei *Gastrostyla steinii* ENG. Russ. Zool. Journ. I, Heft 11—12 p. 321 1917.

³⁾ ENGELMANN (Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. 2 p. 385 1862), welcher als erster die Cysten der von ihm festgestellten Art *Gastrostyla steinii* beschrieben hat, erwähnt nicht direkt die zwei Hüllen dieser Infusorien, er sagt nur: „die Cysten von *G. steinii* sind denen von *St. mytilus* ähnlich, doch im ausgebildeten Zustande etwas zackiger (Taf. XXXI Fig. 9)“. Wie bekannt, gibt es bei *St. mytilus* eine Ectocyste und auch eine Entocyste (STEIN: Der Organismus der Infusionstiere. Taf. VIII Fig. 14. C. BÜRSCHLI: Protozoa. Taf. LXXI Fig. 10h und entsprechende Seiten im Text). GOODEY in seiner Arbeit „The excystation of *cucullus* from its resting Cysts etc.“ (Proc. of the R. S. London Ser. B LXXXVI 1913) im Kapitel über *Gastrostyla steinii* spricht direkt über Ectocyste und Entocyste dieser Infusorie und vergleicht sie mit denselben bei *C. cucullus*. Meine Beobachtungen erlauben mir ebenso mit voller Überzeugung anzunehmen, daß bei dieser Art zwei Hüllen sind (Ectocyste + Entocyste). Daß einige Autoren bei nicht ganz aufmerksamem Studium nur eine Hülle fanden, erkläre ich mir dadurch, daß die zweite Hülle beim Beobachten unter gewöhnlichen Bedingungen nicht immer gut zu bemerken ist, besonders wenn die Entocyste dicht an der Ectocyste liegt (siehe unten). Ich meine, daß die Zeichnungen verschiedener Autoren, in welchen zwischen dem Plasma und der Außenhülle ein enger heller Streifen ist, für die Anwesenheit einer Entocyste sprechen. Um in diesen Fällen deutlich die Anwesenheit der zweiten Hülle zu konstatieren, nütze ich gewöhnlich die Plasmolyse der Cyste aus, indem ich die Cyste in 0,5 m NaCl eintrage.

werde ich versuchen zu beweisen, daß die Schutzcysten, wenigstens der Hypotricha, eigentlich drei Hüllen haben, und diese meine dritte Hülle¹⁾, die unter gewöhnlichen Beobachtungsbedingungen unbemerkbar ist, verursacht die Plasmolyse, resp. osmotische Erscheinungen in der Cyste.

I. Cysten der Hypotricha.

Wenn es gegenwärtig noch schwer fällt, für die Cysten der Infusorien ein umfassendes Schema des Baues der Hüllen vorzuschlagen, so kann man augenscheinlich die Cysten der Hypotricha, die mir am meisten bekannt sind und besonders oft als Objekt meiner Beobachtungen dienten, in dieser Hinsicht in zwei Gruppen einteilen, abhängig von der gegenseitigen Lage der äußeren und inneren Hüllen. Die erste Gruppe, für welche Cyste *Stylonicchia mytilus* EHRBG. als Typus dienen kann (Taf. 5 Fig. 1; siehe auch Tab. VIII Fig. 6 in meiner Arbeit im Jahre 1915), hat Hüllen, die voneinander mehr oder minder abstehen. Im Raume zwischen den Hüllen befindet sich Wasser (resp. Flüssigkeit, welche die Cyste umgibt). Die zweite Gruppe hat die Entocyste dicht an die Ectocyste anliegend; als Typus für diese Art Cysten wird uns die Cyste von *Pleurotricha lanceolata* St. (Taf. 6 Fig. 1) dienen. Diese Einteilung hat einstweilen rein praktische Bedeutung²⁾ und dringt zum aufmerksameren Studium der Cystenhüllen, sich mit einfacher Beobachtung unter gewöhnlichen Umständen nicht begnügend; die Ungleichheit des chemischen Bestandes der Hüllen und Erscheinungen, die beim Excystieren beobachtet werden, erlauben interessante Entdeckungen in dieser Hinsicht zu erwarten. Textfig. A (S. 96) erläutert die von uns angenommene Einteilung der Cysten in die zwei eben beschriebenen Gruppen.

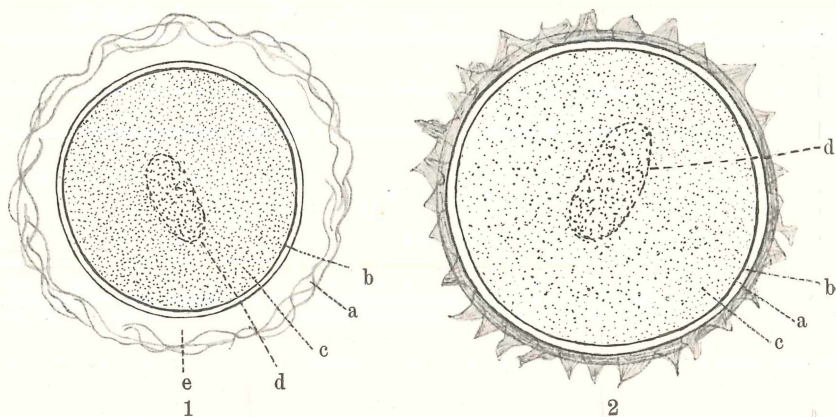
Die Cysten der ersten Gruppe werden gewöhnlich durch ihre ziemlich dünne Ectocyste³⁾ (gewöhnlich fältig) charakterisiert; diese Fältigkeit hängt von der Verdichtung der Hülle und Verminderung des Diameters der Cyste in späten Stadien des Encystierens ab. Die echte Skulptur der Cyste charakterisiert eher die Cysten

¹⁾ Diese Hülle darf man keineswegs mit der dritten Hülle bei FABRE-DOMERGUE verwechseln, welche dieser Forscher bei einigen Infusorien auswärts der Ectocyste beobachtete; meine Hülle ist dagegen die innerste.

²⁾ Ich habe noch nicht genügendes Material, um über den Unterschied im Mechanismus der Absonderung der Hüllen urteilen zu können.

³⁾ Ihre scheinbare Dicke z. B. in Cysten *St. mytilus* hängt vom unwillkürlichen Summieren der Vertiefungen und Wölbungen der Hülle ab.

der zweiten aus der von uns angenommenen Gruppe. Im letzteren Falle bestehen die Dornen und überhaupt die ganze Ectocyste aus Schichten, welche, soweit ich urteilen kann, allmählich von der Oberfläche des sich zusammengezogenen Protoplasmas der Infusorien sich ablösen und auf diese Weise die äußere Hülle bis zu ihrer normalen Dicke komplettieren, manchmal im Gegensatz zum ersten Typus recht bedeutend¹⁾).



Textfig. A. Arten der Cysten.

1. Cyste der ersten Gruppe. 2. Cyste der zweiten Gruppe.

a Ectocyste, b Entocyste, c Plasma, d Kern, e Raum zwischen äußerer und innerer Hülle in den Cysten der ersten Gruppe, welcher mit Flüssigkeit angefüllt ist, die diese Cyste umgibt.

Die zweite Hülle (Entocyste) erscheint als ziemlich dicke strukturlose Umrandung; im Gegensatz zu der ersten Hülle, welche ziemlich oft eine gelbliche oder sogar braune Schattierung besitzt, ist die Entocyste nur in seltenen Fällen gefärbt. Die äußere Hülle bildet sich, bevor sie sich von dem Protoplasma löst, aus feinsten Tropfen eines Stoffes, welcher vom Protoplasma ausgeschieden wird. Diese Tropfen verfließen und bilden eine dünne Membran, welche in Form der äußeren Hülle sich abtrennt. Die Bildung der Entocyste zu verfolgen ist bedeutend schwerer; es scheint mir, daß die Weise ihrer Bildung sich von der Bildung der Ectocyste nicht unterscheidet. Die Details des Abtrennens der Hüllen und die Prozesse, welche zu dieser Zeit sich im Plasma vollziehen, wurden von mir in der Arbeit im Jahre 1915 beschrieben.

¹⁾ Es gibt jedoch auch Cysten in der ersten Gruppe mit dieser Ectocyste.

Das Durchmustern einer ziemlich großen Anzahl von farbigen Cysten (gelblichen und bräunlichen) überzeugt mich, daß nur die äußere Hülle gefärbt ist¹⁾, das Protoplasma aber entweder völlig farblos, oder kaum grau oder gelblich ist, feinkörnig und bei schräger Beleuchtung einen matten Glanz hat. Die Möglichkeit, ganz genau beide Hüllen zu beobachten, mindert sich mit dem Alter der Cyste in einigen Fällen, besonders in Cysten der zweiten Gruppe; gewöhnlich bräunt sich die äußere Hülle und wird runzlig, die Cyste wird weniger durchsichtig. Später können die ganz fertigen Cysten außerordentlich lange in der Flüssigkeit, in welcher sie sich gebildet haben, verweilen ohne merkliche Veränderungen, ausgenommen einiger Aufhellung und größerer Homogenisation des Plasmas. Indem man die Cysten von *St. mytilus*, *Pl. lanceolata*, *St. pustulata*, *Oxytr. pellionnella* u. a. tagaus tagein beobachtet, gelingt es nur anzumerken, daß bis zu einem gewissen Zeitpunkt das Plasma scheinbar heller wird, darauf aber stellt sich augenscheinlich der Zustand des Gleichgewichts ein — dann gelingt es nicht morphologische Veränderungen im Plasma zu bemerken²⁾. Läßt man Cysten auf eine lange Zeit in der Flüssigkeit, in welcher sie entstanden sind, liegen, so kann man beobachten, daß eine ziemlich große Anzahl von Cysten umkommt.

Oft begegnet man Cysten mit verdunkeltem Plasma, grobkörnigen, mit einem Wort in allen Stadien des Zerfalls — bis zum vollen Schwinden des Protoplasmas in den Hüllen. Diese leeren Cysten (Ecto- und Entocyste) widerstehen lange dem Zerfallen und man kann bemerken, daß die Entocyste eher als die Ectocyste verschwindet. Verschiedene Prozesse, welche in den Schutzcysten von mehreren Autoren beschrieben wurden, wie: Fragmentation des Protoplasmas, Bildung der angegebenen Art unähnlicher Embryonen, komplizierte Entwicklung mit amöboiden und Geißelstadien usw., muß man entweder als degenerative Veränderungen beim Absterben der Cysten und Ausartungen ansehen, oder als Entwicklung verschiedener Parasiten in den Cysten, aus deren Leben einzelne Perioden für Veränderungen in dem Protoplasma der Cysten selbst gehalten wurden. Es scheint mir, daß die Sporocysten von RHUMBLER dieser Art Erscheinungen angereicht werden müssen.

¹⁾ In seltenen Fällen, wie z. B. bei *Pseudocolpoda cochlearis*, ist die Entocyste dunkelbraun.

²⁾ Die kontraktile Vakuole pulsiert ziemlich lange und zwar nach sehr langen und unregelmäßigen Pausen; nach Verlauf von 2—3 Wochen nach der Bildung der Cysten gelingt es schon nicht mehr, ihre Tätigkeit zu beobachten.

Die Schutzcysten, einmal gebildet, bleiben unverändert bis zum Moment, wenn die günstig veränderten äußeren Bedingungen es gestatten, den Prozeß des Excystierens anzutreten.

Eine günstige, ich würde sogar sagen eine unentbehrliche Bedingung einer längeren Erhaltung der Cysten und des Excystierens ist das Antrocknen. Dieser Umstand wurde schon von mehreren Untersuchern bemerkt; meine Beobachtungen gestatten es mir, mich dieser Ansicht völlig anzuschließen und außerdem noch hinzuzufügen, daß hypertonische Salzlösungen augenscheinlich auf das Öffnen der Cysten ebenso wirken wie das Antrocknen. Es muß erwähnt werden, daß man die Cysten mitsamt dem Schlamm, den Resten von faulenden Gewächsen usw. mit einem Wort zusammen mit alldem, was in einer Kultur vorhanden ist, antrocknen muß, d. h. gerade so wie es auch unter natürlichen Umständen vor sich geht.

Wenn man aber einzelne Cysten, wie ich es auch mehrere Male geübt habe, gut wäscht und dann auf das Objektglas legt und austrocknet, anfangs bei Zimmertemperatur, dann aber einige Tage sie im Termostat bei 25—30° C¹⁾ aufbewahrt, so erweist es sich beim weiteren Aufweichen, daß ziemlich viele Cysten solch ein gründliches Austrocknen nicht aushalten und umkommen. Augenscheinlich hält das Plasma der Cysten beim natürlichen Austrocknen eine Menge Wasser²⁾ zurück, welcher sie zum Leben bedarf. Leider wissen wir trotz der mehrmals angestellten Experimente bis jetzt noch nicht genau, ob in der Cyste Stoffwechselprozesse sich vollziehen oder nicht. Besonders interessant in dieser Hinsicht ist es, Angaben über die ausgetrockneten Cysten zu erhalten. Einige von den alten Autoren verneinten scheinbar diese Möglichkeit, andere äußerten sich dafür — allenfalls kann man an eine außerordentliche Trägheit der Stoffwechselprozesse, möglich sogar an derer praktische Unerfaßbarkeit oder sogar an derer völlige Einstellung denken. Einmal ausgetrocknete Cysten bewahren jahrelang die Fähigkeit beim Aufweichen aktive Formen zu geben.

Das Excystieren nach dem Antrocknen hervorzurufen gelingt nach meinen Beobachtungen ziemlich leicht. Für die meisten Cysten

¹⁾ Die Experimente wurden mit Cysten von *St. mytilus* veranstaltet.

²⁾ Das Plasma der Cyste gibt Wasser ab, bis zu einer gewissen Grenze, was man wie beim Antrocknen, so auch bei der Wirkung der hypertonischen Lösungen beobachten kann. Sogar beim Eintragen der Cysten in stark konzentrierte Lösung, z. B. 5 m NaCl oder 30 Proz. Glycerin, gelingt es jedoch kein größeres Zusammenziehen hervorzurufen, als bis zur Hälfte des Ausgangsdiameter des Plasmakörpers.

genügt es frisches Teichwasser oder Wasser aus einem anderen Aquarium (nicht aus dem, in welchem die Cysten sich gebildet haben) hinzuzugießen, um ohne Mühe die aktiven Formen zu erhalten; aber man muß nicht vergessen, daß das Alter der Cyste und die Dauer des Antrocknens die Zeit verlängern, welche die Cyste zum Eröffnen nach ihrer Aufweichung bedürfen. Statt des Antrocknens kann man hypertonsche Lösungen benutzen. Ich wende gewöhnlich 0,3—0,5 m NaCl während 5—10 und mehr Stunden an. Nach den Angaben GOODEY's vollzieht sich das Excystieren von *Colpoda cucullus* ganz unbehindert in Leitungswasser, in Heuaufguß, in Mistaufguß und sogar in destilliertem Wasser. Die Technik von GOODEY — das Aufbewahren der Cysten auf Filtrierpapier — schließt die Möglichkeit des Antrocknens nicht aus, jedoch meint der Autor, daß die Fähigkeit zum Excystieren nach mehrwöchentlichem Trocknen rasch und bedeutend sich vermindere. Es muß darauf hingewiesen werden, daß die Temperatur einen großen Einfluß auf die Geschwindigkeit des Öffnens der Cysten ausübt. Für *Colp. cucullus* gibt GOODEY mit einigen Einschränkungen das Optimum ungefähr bis 30° C, für die Cysten von *St. mytilus* liegt laut meinen Angaben das Optimum etwas niedriger — ungefähr bei 28° C. Laugen und Säuren üben auf das Excystieren einen bestimmten Einfluß aus. GOODEY meint, daß die Grenzkonzentrationen (welche das Excystieren unterdrücken) 0,18 Proz. NaOH und 0,09 Proz. HCl sind. Unter diesen Konzentrationen vollzieht sich das Excystieren und geht rasch und unbehindert nach unten von 0,15 Proz. NaOH und 0,08 Proz. HCl (die Reagentien wurden in 1proz. Mistaufguß gelöst). Die Reaktion des Milieu spielt eine große Rolle wie für das Encystieren, so auch für das Excystieren. Meine Beobachtungen zeigten, daß die Konzentration der OH-Ionen in Kulturen, wo Schutzcysten sich bilden, höher sei, als in Kulturen, wo nur bewegliche Formen vorhanden sind. Der Mechanismus des Excystierens selbst ist noch nicht genügend aufgeklärt.

BÜTSCHLI (Protozoa Abt. III p. 1664) sagt, daß über die Art der Reorganisation des Inhaltes der Cyste in diesem Moment recht wenig bekannt sei. Jedoch ist es zweifellos, daß das Wasser ins Plasma eindringt, infolgedessen dies letztere quillt. Gleichzeitig erneuert sich die Tätigkeit der kontraktile Vakuole. Die Wimperchen reorganisieren sich, das Plasma gewinnt sein gewöhnliches vakuoläres Ansehen. Aus den Beobachtungen einer Reihe von Autoren (STEIN, COHN, CIENKOWSKI, BALBIANI u. a.) kann man den Schluß ziehen, daß die Ectocyste schließlich reißt und durch

die entstandene Öffnung kommt das solcherweise freie Infusor heraus. Es ist nicht vonnöten zu vermuten, daß die Hülle dazu eine präformierte Öffnung besitze, — sie zerreißt oder, was weniger wahrscheinlich ist, löst sich an irgendeiner Stelle auf, durch welche das Befreien des Infusors sich vollzieht. Mir gelang es, ziemlich eingehend den Prozeß des Excystierens bei *St. mytilus* EHRLG., *Styl. pustulata* EHRLG., *Pleutr. lanceolata* ST., *Colpoda cucullus* O. F. M., *Pseudocolpoda cochlearis* ILOV. zu verfolgen.

In allen diesen Fällen ergibt sich der Prozeß in den Hauptzügen als Lösung der Entocyste und aktives Zerreißen der Ectocyste, was auch GOODEY beobachtet hat. Er beschreibt diesen interessanten Prozeß bei *Colp. cucullus* folgenderweise:

„Bei aufmerksamer Beobachtung der Bewegungen von *Colpoda*, im Innern ihrer durchsichtigen Entocyste sieht man, daß der Organismus sich frei bewegt und daß die Entocyste sich allmählich im Diameter vergrößert; ihre Wand wird allmählich dünner und endlich wird sie unmerklich und mit der Zeit schwimmt *Colpoda* außer derselben; bei 30° C dauert der ganze Prozeß 5—10 Min. Man gewinnt den Eindruck als wenn die Entocyste sich allmählich löste oder verdaut wurde.“

Um das Wesen der von ihm beobachteten Erscheinungen aufzuklären, wirkte GOODEY auf die Cysten 1. mit Xylol, Toluol, Chloroform, Schwefelkohlenstoff oder 2. mit Dämpfen von Osmiumsäure und Formalin ein. Im ersten Falle starb das Plasma im Laufe von 30 Sekunden ab, die Entocyste aber nahm noch immer im Diameter zu, ihre Wände wurden dünner und schließlich löst sie sich vollkommen auf (zuweilen in 10—15 Min.). Im zweiten Falle töteten die Dämpfe der Osmiumsäure oder des Formalins die *Colpoda* in einigen Sekunden, und man konnte bemerken, daß die Entocyste anzuschwellen aufhörte, ihre Wand verdünnte sich nicht und sogar nach 24 Stunden waren keine Veränderungen zu bemerken. Daraus schloß GOODEY:

„Dieser interessante Unterschied in der Wirkung von flüchtigen Antiseptika und der Wirkung von Dämpfen der Osmiumsäure und des Formalins zeigt, daß der Prozeß des Excystierens in der Norm durch Ausscheidung eines lösenden oder verdauenden Fermentes bedingt wird. Die Antiseptika Toluol, Chloroform u. a. töten den Organismus, nicht aber das Enzym, welches er ausscheidet und somit setzt der Prozeß der Verdauung der Entocyste fort. Andererseits töten Formalin und Dämpfe der Osmiumsäure nicht nur den Organis-

mus selbst, sondern auch das von ihm ausgeschiedene Enzym, darum hört die Verdauung der Entocyste auf.“

Die Verzögerung der Verdauung erklärt der Autor im ersten Falle durch das Fehlen der mechanischen Einwirkung, welche von der kreisenden Infusorie auf die Seitenwand der Entocyste ausgeübt wird und zweifellos ihre raschere Zerstörung befördert. Wir übergehen zunächst die sehr interessanten Experimente von GOODEY, welche er anstellte, um das Wesen der Entocyste aufzuklären, und erwähnen nur, daß ähnliche Beziehungen von ihm auch für die Cysten von *Gastrostyla steinii* festgestellt wurden, und werden dann zur Darlegung unserer Angaben übergehen. Da das Material eintönig ist, begrenzen wir uns mit der Anführung nur eines Protokolles der Beobachtungen des Excystierens bei *St. mytilus*.

Eine Anzahl von Cysten dieses Infusors, welche sich im Herbst 1914 gebildet haben, wurde im April 1915 in zwei Partien eingeteilt; eine Partie wurde dem Antrocknen unterworfen, die andere aber in 0,25 m NaCl gelegt. Die erste Partie wurde sechs Tage nach dem Antrocknen aufgeweicht und gab aktive Formen. Die zweite Partie verweilte bei einer deutlichen Plasmolyse vom 4. bis zum 24. April in der angegebenen Salzlösung. Am 24. April abends wurden die Cysten gründlich vom Salz reingewaschen und in frisches Wasser aus dem Weißen See übertragen. Am 25. April begannen die kontraktile Vakuolen in den Cysten zu arbeiten. 26. April — dasselbe. 27. April — die meisten Cysten in verschiedenen Stadien des Excystierens.

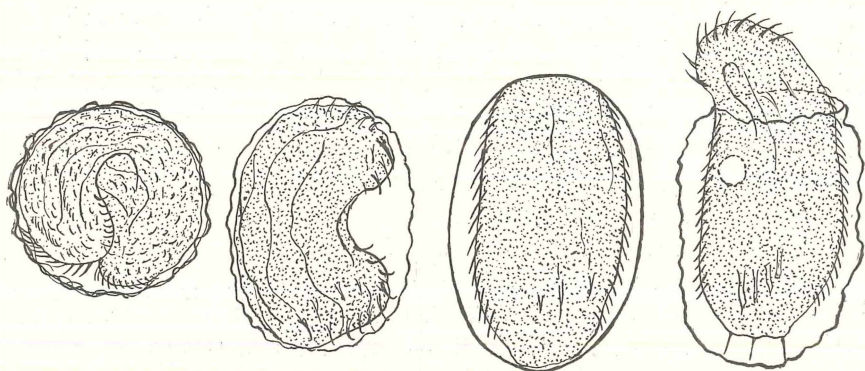
Der Prozeß wurde von seinem Anfange an verfolgt, er stellt sich in folgender Weise dar. Als erstes Zeichen erscheint die Veränderung der Struktur des Plasmas, die Körnigkeit wird etwas grober, es entstehen Vakuolen, bald beginnt die kontraktile Vakuole zu arbeiten. Nach einiger Zeit beginnt das Infusor sich zu drehen, wie früher dicht an der Entocyste liegend. Während dieser Drehung verdünnt sich die Entocyste allmählich und zum Schluß löst sie sich gänzlich auf. Das Infusor, sich rasch im Umfange vergrößernd¹⁾, dreht sich in zerknüllter und zusammengerollter Form im Innern der Ectocyste; allmählich richtet sie sich her und mit den Enden ihres Körpers gegen zwei Punkte der Ectocyste gestemmt, zieht sie die letztere auseinander und, schnell kreisend, reißt sie sie endlich durch. Es bildet sich keine spezielle Öffnung zum Heraustreten,

¹⁾ Sie bindet, zweifellos, energisch das Wasser und nach dem Vernichten der resistenten Entocyste wird sie breiter.

die Außenhülle kann an jeder beliebigen Stelle platzen. Bei anderen Infusorien geht der Prozeß fast ebenso und trifft mit den Angaben GOODEY überein; nur ist das Aufblähen der Entocyste nicht so bedeutend, wie GOODEY es für *Colpoda cucullus* schildert.

Textfig. B. stellt schematisch den Durchriß der Ectocyste beim Excystieren von *St. mytilus* dar.

Höchst interessant erscheint die Rekonstruktion der Wimperbedeckung. Nach dem Auflösen der Entocyste, vielleicht auch früher, was aber schwer zu sehen ist, kann man deutlich bemerken, daß das Infusor von einer großen Anzahl ziemlich langer und dünner Wimperchen bedeckt ist; diese Wimperchen sind fast über den ganzen Körper verbreitet, also von ihrer charakteristischen Gruppierung bei der freien *St. mytilus* (entsp. bei Hypotricha) bedeutend



Textfig. B. *Stylonychia mytilus*. Excystieren.

abweichend. Dann, soweit man bei der Beobachtung eines rasch kreisenden Objektes urteilen kann und auch beim künstlichen Zerreißen der Hülle, wodurch das Infusor vorzeitig befreit wird, klebt sich ein Teil der Wimperchen zusammen, typische Cirri bildend, der andere Teil aber verschwindet augenscheinlich. Die aus der Cyste hervorkommende *Stylonychia* hat kleinere Dimensionen, ist zerknüllt und durchsichtig, trägt aber die typische Wimperbedeckung. Unwillkürlich möchte man das anfängliche ziemlich gleichmäßige Wimperkleid mit der Lage der Wimperchen bei den Holotricha vergleichen, doch enthalte ich mich in diesem Falle phylogenetischer Verallgemeinerungen. Möglich, daß einige Untersucher zum Teil die beschriebene Erscheinung schon beobachtet haben, aber sie falsch als Heteromorphose deuteten. Andere fügten hierzu ganz falsche Beobachtungen. So z. B. hielten J. HAIME, CIENKOWSKI u. a. die von ihnen in Cysten von *Oxytricha gibba* EHRBG.

und *St. pustulata* vorgefundene „*Trichoda lynceus*“, welche nichts anderes als eine in die hohle Ectocyste der genannten Infusorien geratene *Aspidisca* ist, für eine Embryoform der *Stylonychia* und *Oxytricha*. Es wäre höchst interessant die Rekonstruktion der Wimperbedeckung der Hypotricha cytologisch zu studieren, unbeachtet der Möglichkeit wahrheitsähnlicher Spekulationen in bezug auf die Phylogenie der Ciliata. Wir wollen noch erwähnen, daß zuweilen das Infusor vor dem Heraustreten aus der Cyste sich noch einmal teilt; in diesen Fällen kann man zwei und manchmal auch eine größere Anzahl rasch nebeneinander kreisender Stylonichien beobachten. Ähnliche Cysten, wenn man ihre Bildung nicht von Anfang an verfolgt, könnte man für Cysten der Teilung annehmen, besonders da nur eine Hülle (in diesem Falle die Ectocyste) anwesend ist, was, wie es bekannt ist, für die Cysten der Teilung überhaupt charakteristisch ist.

II. Die chemische Beschaffenheit der Hüllen.

Der Unterschied in dem Benehmen der Ectocyste und der Entocyste beim Excystieren weist gewissermaßen darauf hin, daß die chemische Beschaffenheit der Hüllen nicht ein und dieselbe sei, worauf wir in der diesbezüglichen spärlichen Literatur entsprechende Hinweise vorfinden. Im allgemeinen können wir sagen, daß (ausgenommen die Arbeit von GOODEY, dessen Angaben der Prüfung bedürfen) die Meinung der Forscher sich dahin neigte, die Hüllen auf Grund ziemlich primitiver Methoden der Untersuchung entweder als aus Chitin und chitinähnlichen Stoff bestehend zu halten oder aus Cellulose: reiner oder vereint mit irgendeinem anderen Stoff (STEIN). Diese Schlüsse gründeten sich hauptsächlich auf ihre Löslichkeit oder Unlöslichkeit in KOH und auf ihre Färbungs- oder Unfärbungsfähigkeit in einer Mischung von $\text{H}_2\text{SO}_4 + \text{J}$.

Mir scheint es, daß diese Angaben, die gewöhnlich als einander widersprechende angeführt werden, wie auch die bedeutende morphologische Verschiedenartigkeit der Cysten-hüllen erlauben zu denken, daß wir wahrscheinlich sogar bei Infusorien keine einheitliche chemische Beschaffenheit der Hüllen vorfinden werden, wie im Sinne der tatsächlichen Identität der Stoffe, aus welchen die Hüllen gebaut werden, so auch in betreff ihrer Verteilung. Es ist möglich, daß die Funktionen der Hüllen in Zusammenhang damit sich verändern können. Für die Cysten von *Colp. cucullus* führt GOODEY folgende Angaben an.

„H₂O kalt und bei 95—100° C löst weder Ecto- noch Entocysten. H₂SO₄ starke (?) übt keinen Einfluß auf die Hüllen aus. In starker (?) HCl ohne Erwärmen quillt die Ectocyste ein wenig auf, die Entocyste löst sich nicht; beim allmählichen Erwärmen der Cysten in 2 Proz. HCl bis 97° C und einem Verweilen bei dieser Temperatur während einer halben Stunde verschwindet die Entocyste, indem die Ectocyste etwas angequollen bleibt. NaOH 1 Proz., 2 Proz. und 4 Proz. lösen in der Kälte weder die Ecto- noch die Entocysten auf. Bei 30° C bleiben 1 Proz. und 2 Proz. NaOH ohne Wirkung auf die Innenhülle, inzwischen 4 Proz. NaOH sie bei dieser Temperatur löst. 20 Proz. NaOH löst augenscheinlich die Ectocyste auf. Alkohol 95 Proz., Toluol, Chloroform und 40 Proz. Formalin lösen nicht die Hüllen¹⁾. Die Reaktionen auf Proteine, Stärke und Cellulose sind negativ. Von Farben werden die Hüllen nur durch Eisenhämatoxylin nach HEIDENHAIN und durch Hämatoxylin von DELAFIELD gefärbt.“

Auf Grund seiner Beobachtungen kam GOODEY zum Schluß, daß die Entocyste durch ein besonderes Enzym aufgelöst wird, welches vom Protoplasma während des Excystierens ausgeschieden wird.

Experimente über die Wirkung der Fermente auf die Hüllen gaben folgende Resultate: Pepsin und Tripsin wirken nicht auf die Hüllen. Diastase löst die Entocyste wie bei 40° C (in 24 Stunden) so auch in der Kälte²⁾. Ptyalin gab keine vollkommen sicheren Resultate.

Auf Grund dieser Angaben, sowie der Reaktionen der aufgelösten Entocysten zieht GOODEY den Schluß, daß die Entocyste aus einem Kohlenhydrate besteht (a true carbohydrate). Die Entocyste von *Gastrostyla steinii* gleicht der Entocyste von *Colp. cucullus*. Die Grundfolgerung der Arbeit GOODEY's besteht darin, daß die Ectocyste dieses Infusors augenscheinlich der Außenhülle von *Euglena viridis* nahe stehe, welche aus „a nitrogen-free carbohydrate-compound“ besteht. Die Entocyste ist ihrem Bestand nach dem Glykogen, Paraglykogen und Paramylum verwandt, unterscheidet sich jedoch von ihnen durch ganz bestimmte Reaktionen; GOODEY schlägt vor, diesen Stoff „Cystose“ und dem entsprechend das Ferment, welches von dem Protoplasma ausgeschieden wird, „Cystase“

¹⁾ Beim Darlegen seiner Angaben führt GOODEY nur die Schlußresultate seiner Beobachtungen an.

²⁾ An dieser Stelle des Textes bemerkt man im Vergleich zu den Folgerungen einigen Widerspruch.

zu benennen. Leider hatte ich aus oben erwähnten Gründen keine Möglichkeit, diese hochinteressanten Angaben durchzuprüfen.

Gegenwärtig bin ich gezwungen, meine anfänglichen Beobachtungen an den Hüllen von Cysten von *St. mytilus* (S. 196 l. c.) zu verbessern, da ich damals nicht genügend die Zeitdauer und die T° in Augenschein genommen habe, bei welcher ich auf die Hüllen die oder jene Reagentien einwirken ließ. Außer *St. mytilus* besitze ich noch einiges Material mit Cysten von *Pleutr. lanceolata* und *Bursaria truncatella*. Das Resultat der Einwirkung von NaOH auf die Cysten von *St. mytilus* ist auf den hinzugefügten Tabellen I und II zusammengefaßt.

Tabelle I.

(Serie III; NaOH; t = 18° C.)

NaOH	Hülle	Zeit (in Stunden)				
		1	24	48	72	96
1%	Ectocyste	nicht aufgelöst	nicht	nicht	nicht	
	Entocyste	"	"	"	"	
2%	Ectocyste	"	"	stark angequollen	"	
	Entocyste	"	"	"	"	
4%	Ectocyste	"	stark angequollen	aufgeklärt, wenig klar deutlich	zernagt	
	Entocyste	nach 2 Stunden stark angequollen	"	Dicke erreicht 5 μ	vollkommen aufgelöst	
8%	Ectocyste	nicht aufgelöst	deutlich	zernagt aber deutlich	"	
	Entocyste	nach 2 Stunden angequollen	bei einer Anzahl von Cysten aufgelöst	vollkommen	"	
15%	Ectocyste	doppelkonturig, dünn	deutlich	"	"	
	Entocyste	angequollen	aufgelöst	"	"	
30%	Ectocyste	doppelkonturig, dünn	deutlich	"	"	
	Entocyste	angequollen	aufgelöst	"	"	

Tabelle II.
(Serie III; NaOH; $t = 40^{\circ}$ C.)

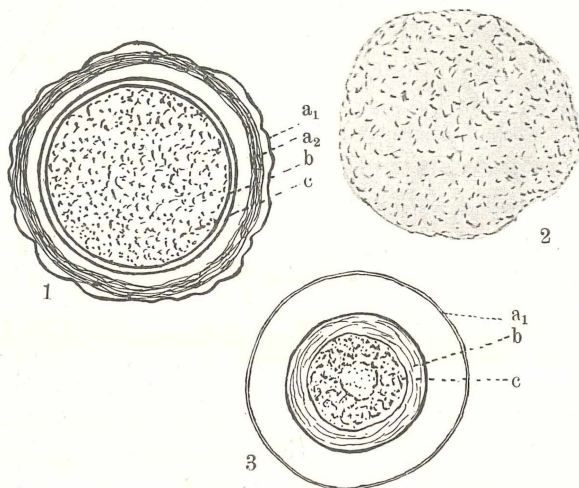
NaOH	Hülle	Zeit (in Stunden)				
		1	24	48	72	96
1%	Ectocyste	stark angequollen	aufgelöst	aufgeklärt	ganz aufgelöst	
	Entocyste	angequollen	"	"	"	
2%	Ectocyste	stark zernagt	fast aufgelöst	(Kügelchen mit Körnchen)	"	
	Entocyste	angequollen	aufgelöst	"	"	
4%	Ectocyste	stark zernagt	fast aufgelöst	"	(Kügelchen mit Körnchen)	
	Entocyste	angequollen	aufgelöst	"	"	
8%	Ectocyste	stark zernagt	fast aufgelöst	"	(Kügelchen mit Körnchen)	
	Entocyste	angequollen (2 Stunden)	aufgelöst	"	"	
15%	Ectocyste	zernagt, aber deutlich (1 Schicht)	dasselbe	dasselbe	dasselbe	
	Entocyste	nach 2 Stunden aufgelöst	"	"	"	
30%	Ectocyste	(1 Schicht) zernagt aber deutlich	"	"	"	
	Entocyste	aufgelöst (2 Stunden)	"	"	"	

Aus diesen Tabellen ist zu ersehen, daß bei $t^{\circ} = 40^{\circ}$ C die Ectocyste sich fast völlig in verhältnismäßig schwachen Lösungen NaOH (2—8 Proz.) auflöst. Ich muß sagen, daß die statt Cysten entstandenen körnigen Kügelchen doch nicht verfließen, was möglicherweise auf Reste, fast unmerkliche, der Ectocyste hinweist, das aber kann keineswegs hindern anzunehmen, daß die Ectocyste tatsächlich aufgelöst sei. Die Innenhülle löst sich, von 4 proz. NaOH anfangend, völlig im Laufe von 96 Stunden schon bei Zimmertemperatur, und im 2 proz. bei 40° — im Laufe von 48 Stunden. Die Besonderheiten der Auflösung und Veränderung der Hüllen verdienen, daß man etwas ausführlicher ihre allmählichen Veränderungen beim Auflösen darstellt.

Serie III, Nr. 11. NaOH 1 Proz., $t = 40^{\circ} \text{C}$.

42 Cysten von *Stylonichia mytilus* wurden in die angegebene Lösung bei 18°C gelegt und nachher in den Termostat (40°C) um 1 Uhr 20 Min. den 1. Februar 1916 übergetragen.

6 Uhr 32 Min. Die Ectocyste und Entocyste sind stark gequollen, besonders die Ectocyste. Die Cysten haben das Aussehen wie Textfig. C1. Die Ectocyste ist in zwei Schichten zerfallen, eine sehr dünne — die äußere — und eine dickere, deutlich faserige (als Folge des Aufquellens) — die innere. Diese Schicht, wie wir es weiter sehen werden, löst sich unter der Wirkung stärkerer Lösungen



Textfig. C. *Stylonichia mytilus*.

1—3 das Zerfallen der Ectocyste in zwei Schichten.

a_1 äußere, a_2 innere Schicht der Ectocyste, b Entocyste, c Plasma.

rasch auf, infolgedessen wir bei der Auflösung der Entocyste und Plasma feinkörnige Kügelchen mit einem sehr dünnen zernagten Umrand erhalten.

Somit muß man annehmen, daß die Ectocyste von *St. mytilus* aus zwei Schichten besteht: der äußeren standhafteren (die erste Schicht der Ectocyste) und der inneren (die zweite Schicht der Ectocyste) weniger resistenten. Diese Teilung in zwei Schichten wird auch beim aufmerksamen Studieren der Schnitte durch die Cyste, welche mit Eisenhämatoxylin nach HEIDENHAIN gefärbt sind, bestätigt. Auf solchen Präparaten sind deutlich die sich dunkelfärbende äußere und die hellere innere Schicht zu sehen (siehe Taf. 6).

Serie III Nr. 13. NaOH 2 Proz., $t = 40^{\circ} \text{C}$.

Ungefähr 20 Cysten von *St. mytilus* wurden den 2. Februar 1916 2 Uhr nachmittags in 2proz. NaOH gelegt. Im Laufe der nächsten 10 Stunden konnte man ein Quellen der Ectocyste wie auch der Entocyste bemerken. Nachher begann die zweite innere Schicht der Ectocyste allmählich sich aufzulösen, und gegen 24 Stunden war die Ectocyste stark zernagt. Im Laufe der nächsten 24 Stunden (48 Stunden vom Anfang des Experimentes) wurde die Entocyste völlig aufgelöst, die zweite Schicht der Ectocyste löste sich ebenso auf¹⁾. Von der ersten Schicht blieb ein feiner zernagter Streifen zurück, solchermaßen undeutlich, daß er sogar nicht in allen Fällen bemerkbar ist. Die Cyste hat in diesem Moment das Ansehen wie Textfig. C2 (S. 107).

Somit kann man annehmen, daß 2proz. NaOH bei 40°C die beiden Hüllen löst. Die Wirkung der 4proz. und 8proz. NaOH unterscheidet sich nur durch die Schnelligkeit der Einwirkung auf die Hüllen, wobei die äußere Schicht der Ectocyste in diesen Lösungen langsamer sich löst als in 2proz.

Serie III Nr. 27 und 28. NaOH 15 Proz.

 $t = 18^{\circ} \text{C}$.

2. Febr. 1916. 2 Uhr 40 Min.

Ungefähr 30 Cysten von *St. mytilus* sind in 15proz. NaOH gelegt. 3. Februar 9 Uhr 25 Min. morgens. Bei allen Cysten ist die Entocyste stark angequollen, ihre Dicke erreicht 6μ ; deutlich geschichtet; die zweite Schicht der Ectocyste ist schon nicht bemerkbar, die erste Schicht ist deutlich doppelkonturig (siehe Textfig. C3).

Es ist notwendig zu bemerken, daß die schwächeren Lösungen, z. B. 4—8proz., schneller die Entocyste lösen als die stärkeren. 4. Februar. Die Entocyste ist ganz aufgelöst, die Ectocyste ist deutlich zu sehen. 10. Februar ebenso. Somit hat sich die äußere Schicht der Ectocyste nicht aufgelöst.

 $t = 35^{\circ} \text{C}$.

2. Febr. 1916. 2 Uhr 55 Min.

24 Cysten von *St. mitilus* sind in 15proz. NaOH gelegt. 3 Uhr 5 Min. Die Entocyste ist angequollen, die zweite Schicht der Entocyste ist nicht zu bemerken. 3 Uhr 30 Min. Fast bei allen Cysten ist die zweite Schicht der Ectocyste merklich gequollen. 4 Uhr 7 Min. Die Entocyste ist bei vielen Cysten fast aufgelöst. Die zweite Schicht der Ectocyste ist ganz aufgelöst. 3. Februar. Die Entocyste ist bei allen Cysten abwesend; die erste Schicht der Ectocyste ist beträchtlich zernagt, aber deutlich. 10. Februar ebenso.

Somit muß man annehmen, daß die äußere Schicht der Ectocyste sich erhalten hat.

¹⁾ Wenn man die Cysten in verschiedenen Stadien des Lösens der zweiten

30proz. NaOH wirkt fast ebenso. Ich beobachtete bei *St. pustulata* und *Pleutr. lanceolata* eine ähnliche Erscheinung; im letzten Falle sondert sich die zweite Schicht (resp. die erste) bei der Auflösung nicht ab. Die Ectocyste von *Bursaria truncatella* ist bedeutend resistenter.

2. Februar 1916. 27 Cysten von dieser Infusorie wurden in 30proz. NaOH bei $t = 46^{\circ}\text{C}$ gelegt. Nach 20 Min. klärte sich das Plasma bedeutend, Ecto- und Entocysten sind ohne Veränderung. Am 3. Februar ist das Plasma fast unmerkbar, die Entocyste und die Anhängsel sind gar nicht aufgelöst, der Propfen ist nicht gelöst, nur sein äußerer Kontur wurde undeutlich. Am 4. und 5. Februar dasselbe. Die äußere Hülle und der Propfen blieben in diesem Falle fast unberührt.

Die Wirkung NaOH auf die Hüllen der Cysten von *St. mytilus*, *St. pustulata* und *Pleutr. lanceolata* resümierend, konstatieren wir, daß die Entocyste mit verschiedener Schnelligkeit in Lösungen NaOH sich löst; die Ectocyste löst sich auch. Somit muß man meine ersten Beobachtungen in dieser Hinsicht als unrichtig annehmen.

Die Experimente mit anderen Stoffen gaben folgende Resultate:

Schwefelsäure spez. Gewicht 1,8	} die Hüllen lösen sich nicht auf
Salzsäure " " 1,12	
	($t = 18^{\circ}\text{C}$).

20proz. HCl. (spez. Gewicht 1,12) wirkte beim Aufkochen während 5—10 Min. Die Hüllen blieben ungelöst.

Essigsäure	} wirkten bei $t = 18^{\circ}\text{C}$ während 24—48 Stunden.	
Chloroform		
Toluol		
Xylol		
Äthylalkohol		
Propyl "		} Die Hüllen blieben ungelöst.
Methyl "		
Butyl "		
Formalin 40proz.		
Glycerin		

Die Hüllen blieben unverändert in Pepsin und Tripsin während 48 Stunden bei Kälte und bei 40°C . Trotz den Angaben Goodey's

Schicht durchmustert, so kann man die verschiedenartigsten Bilder beobachten, von dem Grade des Auflösens dieser Schicht abhängig. Manchmal ist ein dünner Streifen oder zwei Streifen zwischen Ecto- und Entocyste zu sehen, das sind Stadien des Auflösens der zweiten Schicht.

löste Diastase die Entocyste in Cysten von *St. mytilus* nicht auf¹⁾. $J+H_2SO_4$, $J+H_3PO_4$, Chlor-Zink-Jod gaben keine Färbung.

Sonst können wir den Schluß ziehen, daß für die Cysten von *Colpoda cucullus* unsere Angaben mit den Angaben GOODER's fast übereinstimmen.

III. Plasmolyse der Cysten.

Wirkung der Salze und organischer Stoffe auf Cysten von *St. mytilus*, *St. pustulata*, *Pleutr. lanceolata* u. a., Plasmolyse der Cysten, halbdurchlässige Hülle, welche osmotische Erscheinungen in den Cysten bedingt.

Plasmolyseerscheinungen²⁾, welche in Lösungen von NaOH und KOH wie auch in Säuren beobachtet wurden (in den letzteren aber hörte die Plasmolyse bald auf), zwangen mich eine Reihe von Experimenten mit verschiedenen Salzen und organischen Stoffen vorzunehmen, um diese Erscheinung aufzuklären. Wenn wir die Cysten von *St. mytilus*, *Pl. lanceolata*, *St. pustulata* oder überhaupt — das kann ich jetzt mit großer Wahrscheinlichkeit sagen — irgendeinem Vertreter der Hypotricha³⁾ in eine ziemlich starke Salzlösung, z. B. 0,5 m NaCl legen, so werden wir kurz darauf imstande sein zu bemerken, wie das Protoplasma sich zusammenzuziehen anfängt (das Wasser abgibt) und sich von der Entocyste entfernt (Taf. 5 Fig. 2). Nachdem das Zusammenziehen sein Maximum erreicht hat, kann das Plasma eine lange Zeit ohne Veränderung in der Salzlösung verweilen. Man kann bemerken, daß die Konzentration der Lösung den Grad des Zusammenziehens ziemlich genau bestimmt. Nachdem wir die Cysten einige Zeit in der Salzlösung gehalten haben, legen wir sie in das Wasser derjenigen Kultur, in welcher die Cysten sich gebildet haben, oder in Leitungswasser, oder endlich in destilliertes Wasser. Wir merken sofort, daß das zusammengezogene Protoplasma (und das Zusammenziehen kann recht stark sein, erreicht bis 0,5 des Diameters und — selten — mehr) sich wieder rasch herstellt und das frühere Volumen einnimmt, d. h. wieder an die Ectocyste

¹⁾ Möglich, daß ich nicht über ein ganz zuverlässiges Präparat verfügte, obgleich ich das nicht meine.

²⁾ Soviel es mir bekannt ist, wurden die Plasmolyseerscheinungen in Cysten der Protozoa nur von MOUTON studiert (MOUTON: Sur la plasmolyse. C. R. Ac. Sc. T. 125 1897 p. 407—409. Als Objekt diente ihm Cysten der Amöben (?).)

³⁾ Bis jetzt beobachtete ich die Plasmolyse in Cysten von mehr als zehn verschiedenen Arten der Hypotricha.

sich dicht anlegt (Taf. 5 Fig. 1). Cysten, die der Wirkung des Salzes ausgesetzt wurden, kann man zum Excystieren bringen, wenn man sie in frisches Teichwasser legt. Vor uns ist eine typische Plasmolyse, welche man mehrere Male nacheinander hervorrufen kann. Ich muß bemerken, daß ich für eine echte Plasmolyse solches Zusammenziehen des Plasmas (mit Abgabe von Wasser) anerkenne, wenn wir nach Entfernen der Ursache, die das Zusammenziehen hervorruft, nicht nur imstande sein werden das Plasma auszugleichen, sondern auch ganz sicher sein können, daß dieses Plasma lebendig geblieben sei, d. h. daß im Falle der Cysten wir noch die Möglichkeit haben aktive Formen zu erzeugen.

Diese Erläuterung ist notwendig, da nicht jedes Zusammenziehen und darauffolgende mögliche Herstellung für Plasmolyse gelten kann, welche dem lebenden Plasma der Cysten der Infusorien eigen ist. Das zum ersten. Die echte Plasmolyse tritt rasch auf und verschwindet ebenso rasch bei der Beseitigung der Ursachen, die sie hervorgerufen haben; dabei hellt sich¹⁾ das Plasma, einen silbernen Ton annehmend, alle Strukturelemente werden unsichtbar. Falls wir bei Anwendung irgendeines Reaktivs bemerken, daß das zusammengezoogene Plasma sich verdunkelt oder körnig wird, oder der Kern (welcher gewöhnlich nicht besonders klar bemerkbar ist) scharf hervortritt, so werden wir trotz der in einigen Fällen möglichen Herstellung (wenn das Plasma sich nicht verdickt hat) nie eine aktive Form erhalten, — das Protoplasma ist nicht mehr lebendig, das Reaktiv ist in dasselbe eingedrungen. Das zum zweiten.

Wenn wir die Oberfläche des während der Plasmolyse sich zusammengezogenen Protoplasmas aufmerksam betrachten, werden wir sogar bei geringer Vergrößerung zarte Fältchen auf der Oberfläche des Plasmas bemerken (Taf. 5 Fig. 2). Weiter werde ich versuchen zu beweisen, daß diese Fältchen nichts anderes als die dritte Hülle der Cysten der Hypotricha²⁾ sind —, die Hülle,

¹⁾ Ohne Zweifel infolge der gegenseitigen Annäherung der sichtbaren Strukturelementen des Plasmas.

²⁾ Ich spreche bestimmt nur über Cysten der Hypotricha, in welchen, meiner Meinung nach, die Eigenschaften der Halbdurchlässigkeit mit der Intimocyste verbunden sind. Was die anderen Ciliata anbetrifft, so muß man denken, daß bei ihnen die Undurchlässigkeit für Salze vielleicht durch eine der ersten Hüllen bedingt ist. Ich kann es vollkommen genau von den Cysten von *Dileptus anser*, *Bursaria truncatella*, *Pseudocolpoda cochlearis* behaupten, in welchen die Intimocyste augenscheinlich ganz fehlt.

welche untrennbar mit dem Protoplasma verbunden ist, welche durch das Plasma nach der Bildung der ersten zwei Hüllen — Ectocyste und Entocyste — ausgeschieden wird und die Plasmolyse der Cysten bestimmt, d. h. die Eigenschaften der Halbdurchlässigkeit besitzt. Wenn wir die Außenhülle Ectocyste nennen und die Innenhülle Entocyste, so schlage ich vor, diese dritte Hülle, welche bei gewöhnlicher Beobachtung (ohne Plasmolyse) unsichtbar ist, Intimocyste zu benennen.

Experimente mit der Wirkung der Salze und organischer Stoffe so auch der Säuren und Alkalien wurden in folgender Weise angestellt. Eine Anzahl von Cysten wurde vorläufig in derjenigen Lösung, deren Wirkung man zu erproben beabsichtigte, gewaschen und zwecks Beobachtung in dieselbe gelegt. Parallel wurde, bei immerwährendem Beobachten unter dem Mikroskop, die der Prüfung unterzogene Lösung unter das Deckglas hinzugegeben. Eine Anzahl der Cysten aus der dem Experiment unterzogenen Partie wurde vor dem Experiment und während desselben genau ausgemessen. Ich gebe nur wenige von meinen Protokollen wieder.

Serie B. Nr. 1. 5 m NaCl; Cysten von *St. mytilus*.

28. Februar 1915. Ungefähr 30 Cysten sind in 5 m NaCl gelegt. 6 Cysten werden beständig gemessen; im weiteren gebe ich die Messungen nur einer an, da die Veränderungen fast identisch waren. Vor dem Einlegen in die Lösung war der Diameter der Ectocyste in einer Richtung 108 μ , in der anderen 107 μ . Der Diameter der Entocyste war bis zum äußeren Rand 86 μ , die Dicke der Entocyste ist 2 μ . Der Diameter des Zentralkörpers (Plasma + Intimocyste) ist 82 μ . Um 3 Uhr 50 Min. werden die Cysten in 5 m NaCl übertragen. Der Zentralkörper zog sich außerordentlich rasch zusammen, die Ectocyste bog sich ein und richtete sich bald darauf auf, so daß schon nach 5 Min. sie ihr früheres Ansehen annahm. Das zeigt zweifellos, daß die Ectocyste für NaCl durchdringbar sei. Der Zentralkörper zog sich stark zusammen und nahm die Form eines unregelmäßigen knolligen Kügelchens (die Fältchen der Intimocyste) an. Er hellte sich bedeutend auf und man kann in ihm schon keine für die Cysten übliche Feinkörnigkeit und den Kern bemerken, welcher gewöhnlich bei normalen Bedingungen sichtbar ist und die Form einer Bohne hat. Mit einem Wort, das Plasma sieht ebenso aus, wie in trocknen Cysten, was natürlich verständlich ist, wenn man beachtet, daß es eigentlich gleichgültig ist, auf welche Weise das Wasser

der Cyste entzogen wird — durch Antrocknen oder durch Wirkung einer hypertonen Lösung. 4 Uhr 20 Min. Diameter der Ectocyste 108 μ und 106 μ . Entocyste 85 μ . Zentralkörper in einer Richtung 58 μ , in der anderen 62 μ . Am 1. März ist die Plasmolyse bei den meisten Cysten verschwunden. Am 2. März ist sie bei allen Cysten verschwunden. Messungen: Ectocyste 108 μ und 110 μ . Entocyste 84 μ , Dicke 2 μ . Plasma 80 μ . Die Cysten wurden in destilliertes Wasser übertragen.

3 Uhr. Ectocyste 108 μ . Entocyste 94 μ . Plasma 90 μ . 3 Uhr 27 Min. Entocyste 88 μ . 3 Uhr 42 Min. — dasselbe. Ich trage in 5 m NaCl über. Die Ectocyste hat sich zusammengezogen und ausgeglichen, wie im Anfang des Experimentes; ihr Diameter ist 108 μ . Entocyste 80 μ . Zentralkörper in einer Richtung 60 μ , in der anderen 78 μ . 3 Uhr 50 Min. Diameter des Zentralkörpers 72 μ und 78 μ . 4 Uhr. Ectocyste 108 μ . Entocyste 81—80 μ . Zentralkörper 74 und 77 μ . 4 Uhr 12 Min. Der Kern ist stark hervorgetreten. Die Cyste ist zweifellos tot; ein unbedeutendes Zusammenziehen des Plasmas im zweiten Falle kann für keine echte Plasmolyse gelten.

Aus diesem Experimente machen wir solche Folgerungen: in 5 m Lösung NaCl dringt das letztere in die Cysten im Laufe von 48 Stunden ein. Ectocyste und Entocyste sind vollkommen durchlässig für das Salz; bei passenden Bedingungen ist die Entocyste fähig ihren Diameter zu verändern, hauptsächlich in der Richtung seiner Vergrößerung.

Serie B. Nr. 2. 3 m NaCl.

1. März 1915. 22 Cysten von *St. mytilus* sind in 3 m NaCl gelegt. 4 Cysten wurden gemessen, die anderen wurden, wie immer, mit den gemessenen verglichen. Ectocyste 112 μ . Entocyste 89 μ . Dicke der Entocyste 2 μ (weiter werde ich die Dicke der Entocyste nicht erwähnen, da sie sehr beständig ist und unbedeutend in dieser oder jener Richtung variiert, ungefähr in Grenze von 2 μ , abhängig von der Größe der Cyste). Zentralkörper 85 μ . 4 Uhr 27 Min. Die Cysten sind in 3 m NaCl gelegt. 4 Uhr 55 Min. Ectocyste ist völlig ausgeglichen, Entocyste 88 μ . Zentralkörper 63 μ und 60 μ . 2. März. 3 Uhr 13 Min. Ectocyste 112 μ . Entocyste 86 μ . Zentralkörper 66 μ und 58 μ . 3. März — dasselbe. 4. März. 2 Uhr 7 Min. schwindet die Plasmolyse fast in allen Cysten. 5. März. 3 Uhr 30 Min. Plasmolyse in allen Cysten geschwunden, der Kern scharf

hervorgetreten. Weiter wurden die Cysten auf dieselbe Weise bearbeitet wie im Falle 5 m NaCl¹⁾.

Schluß: 3 m NaCl dringt in das Plasma ungefähr nach 60 Std. ein.

Serie B. Nr. 3. 1 m NaCl.

4. März 1915. Ectocyste 112 μ . Entocyste 86 μ . Zentralkörper 84 μ . 2 Uhr 37 Min. 18 Cysten von *Stylonychia mytilus* sind in 1 m NaCl gelegt. Ectocyste ist fast unverändert. Plasmolyse begann sofort, aber langsamer als in stärkeren Lösungen. 2 Uhr 44 Min. Ectocyste 112 μ . Entocyste 86 μ in einer Richtung und 84 μ in der anderen. Zentralkörper 64 μ und 63 μ . 3 Uhr 7 Min. — dasselbe. Augenscheinlich hat der Zentralkörper das Maximum seines Zusammenziehens erreicht. 5. März. 4 Uhr 2 Min. Ectocyste 110 μ und 111 μ . Entocyste 84 μ und 86 μ . Zentralkörper 64 μ und 63 μ . 6. März — dasselbe. Die Cysten blieben im 1 m NaCl ohne jegliche Veränderung bis zum 7. April, d. h. mehr als 30 $\times$ 24 Stunden, dann wurden sie in zwei Partien eingeteilt. Die erste Partie wurde in frisches Teichwasser gelegt nach gründlichem Abwaschen vom Salz in destilliertem Wasser; nach 3 $\times$ 24 Stunden öffneten sich zwei Cysten und gaben normale aktive Formen, die übrigen haben ein lebendes Aussehen. Die zweite Partie wurde in destilliertes Wasser übergetragen, die Plasmolyse verschwand ebenso rasch, wie in der ersten Partie, das Plasma glich sich aus und hat dasselbe Aussehen wie in normalen Cysten. Die Cysten sind in 1 m NaCl übergetragen. Plasmolyse wurde bis zum 16. April beobachtet, wo diese Cysten in 5 m NaCl übergetragen wurden. Die Plasmolyse nahm zu. Am 17. April war die Plasmolyse in allen Cysten geschwunden, der Kern trat scharf hervor, — das Salz ist in das Plasma eingedrungen¹⁾. In der anderen Serie der Experimente beobachtete ich die Plasmolyse mehr als 20 $\times$ 24 Stunden, d. h. bis zum Ende des Experimentes.

Schluß: 1 m NaCl dringt in das Plasma der Cysten wenigstens im Laufe 30 $\times$ 24 Stunden nicht ein²⁾.

¹⁾ Wenn man bei solchen Cysten die erste und die zweite Hülle verletzt und diese Cysten darauf in destilliertes Wasser einbringt, so kann man bemerken, daß das tote Plasma das Wasser so stark bindet, daß es durch die verletzte Stelle aus den Hüllen hervortritt in Form eines umfangreichen Vorsprunges. Dieses Experiment gelingt, falls man nicht zu lange die Cysten in der Salzlösung nach dem Verschwinden der Plasmolyse hält.

²⁾ Man soll anmerken, daß das Alter der Cysten und möglich auch die Dauer ihrer Aufbewahrung in der Flüssigkeit, in welcher die Cysten sich gebildet haben, auf ihre Resistenz in bezug der Salze einwirkt. Die jüngeren Cysten sind resistenter.

Serie B. Nr. 5. 0,5 m NaCl.

6. März 1915. Ectocyste 110 μ und 113 μ . Entocyste 89 μ und 88 μ . Zentralkörper 84 μ . 3 Uhr 23 Min. 27 Cysten sind in 0,5 m NaCl gelegt. Die Ectocyste im Gegensatz zu den ersten Serien hat sich gar nicht eingebogen. 3 Uhr 25 Min. Eine leichte Plasmolyse ist bemerkbar. 3 Uhr 33 Min. Ectocyste 110 μ und 112 μ . Entocyste 86 μ und 85 μ ; der Zentralkörper 70 μ und 72 μ . 4 Uhr 15 Min. Ectocyste 110 μ und 112 μ . Entocyste 87 μ und 88 μ . Zentralkörper 68 μ und 70 μ — hat maximales Zusammenziehen erreicht. Die Cysten blieben in der Lösung bis zum 15. April, wo das Experiment abgeschlossen wurde, ohne jegliche sichtbare Veränderungen.

Weiter wurden Konzentrationen von NaCl 0,25 m, 0,2 m, 0,18 m, 0,15 m und 0,1 m angewandt. Plasmolyse fand statt in Konzentrationen nicht unter 0,15 m bei einer verhältnismäßig geringen Anzahl von Cysten, 15—20 Stück bei jedem Experiment. Ich werde diese ziemlich eintönigen Experimente nicht eingehend schildern, werde nur angeben, daß in sehr schwachen Lösungen, womöglich dem isosmotischen Plasma, die kaum merkliche Plasmolyse aus einiger Anzahl der Cysten nach einigen Tagen verschwinden kann. Alle Serien von Cysten wurden nach 10—15 Tagen in frisches Wasser gelegt, wobei immer aktive Formen erhalten wurden. Das fast völlige Fehlen der Turgeszenz der Entocyste, die völlige Durchlässigkeit für Salz der Ectocyste, wie auch der Entocyste, eine bestimmte Konzentration unter welcher keine Plasmolyse-Erscheinungen beobachtet werden, dies alles erlaubt uns genaue Experimente zum Zweck der Bestimmung des osmotischen Druckes in den Cysten anzustellen.

Serie B. Nr. 5a; MgSO_4 , MgCl_2 , KNO_3 , NaNO_3 , KCl.

Bei Experimenten mit Lösungen MgSO_4 in Konzentrationen 1,5 m, 0,5 m, 0,25 m und schwächeren wurden dieselben Resultate, wie mit NaCl erlangt.

In Lösungen 1 m, 0,5 m u. 0,25 m MgSO_4	hielt Plasmolyse über 10 Tagen, d. h. bis zum Ende des Experimentes an.
„ „ „ „ KNO_3	Es scheint mir, daß
„ „ „ „ NaNO_3	KCl viel giftiger als NaCl für die Cysten sei.
„ „ „ „ KCl	

Serie B. Nr. 53. CuSO_4 .

21. November 1915. 1 Uhr 2 Min. Die Cysten von *St. mytilus* sind in 0,25 m CuSO_4 eingetragen. Um 1 Uhr 50 Min. eine leichte Plasmolyse bemerkbar, die Plasmolyse tritt viel langsamer ein, als im 0,5 m NaCl. Am 22. November eine deutliche Plasmolyse. Die Beobachtung wurde während 7 Tagen fortgeführt ohne daß jegliche Veränderung in der Stärke der Plasmolyse und im Zustand der Cysten eintrat; dann wurden die Cysten in Aquariumwasser übergetragen — Plasmolyse verschwand, die Cysten haben ein lebendes Aussehen. Sind in 1 m NaCl gelegt. Eine starke Plasmolyse; nach 2 Tagen sind die Cysten wieder in Aquariumwasser übergetragen — das Ausgleichen ganz normal. Das Excystieren gelang nicht, möglich weil für das Experiment Cysten genommen wurden, welche vor 2 Jahren sich gebildet hatten.

Schluß: CuSO_4 drang augenscheinlich in das Plasma nicht ein

HgCl_2 .

Eine gesättigte Lösung (bei 18° C). Die Cysten von *St. mytilus* sind am 7. April 1915 um 4 Uhr 10 Min. in diese Lösung eingetragen. Die Ectocyste bog sich nicht sofort ein. 4 Uhr 30 Min. Der Inhalt der Cysten bräunte sich stark, die Plasmolyse ist aber die ganze Zeit abwesend; nur nach einigen Stunden kann man ein leichtes Zusammenziehen des Plasmas bemerken, welches zweifellos von der Verdichtung beim Fixieren abhängt. Dasselbe Resultat wurde bei Anwendung 2 proz. und 4 proz. Lösungen erhalten. Somit dringt das Sublimat leicht durch alle drei Hüllen.

$\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$.

Eine gesättigte Lösung. Die Cysten von *St. mytilus* sind in diese Lösung am 7. April 1915 um 3 Uhr 45 Min. eingetragen. Die Ectocyste hat sich zusammengezogen und wie immer schnell hergerichtet. 3 Uhr 52 Min. Die Plasmolyse ist noch nicht verschwunden, aber der Inhalt der Cysten bräunt sich nicht. 4 Uhr 12 Min. Leichte Plasmolyse ist zu bemerken. 6 Uhr. Deutliche Plasmolyse, die Fältchen der Intimocyste sind gut bemerkbar. 8. April. Ectocyste 110 μ . Entocyste 82 μ . Zentralkörper 70 μ und 74 μ . Der Zentralkörper ist wie immer silberfarben und zeichnet sich scharf auf dem Grunde der ihn umgebenden Flüssigkeit aus. Es ist deutlich zu sehen, daß $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ die Ecto- und Entocyste durchdrang. In diesem Zustand lagen die Cysten bis zum 12. April, wo die Plasmolyse sich langsam zu vermindern begann und zum

14. April bei den meisten Cysten fast verschwand; der Inhalt der Cysten bewahrt scheinbar seine frühere Farbe, aber die Struktur des Kernes ist scharf hervorgetreten. 19. April. Die Cysten sind in Leitungswasser übertragen, — der Zentralkörper ist gelb; es ist gut zu sehen, wie $K_2Cr_2O_7$ aus dem Raum zwischen Ecto- und Entocyste und Intimocyste rasch schwindet. Das Plasma ist ohne Zweifel fixiert. Einige Cysten sind in destilliertes Wasser übertragen; durch leichtes Aufdrücken des Deckglases rissen die Hüllen und das Plasma kam zum Vorschein, aber es war nicht mehr flüssig und darum zerfloß es nicht, wie es beim Zerdrücken einer frischen Cyste geschieht.

Aus diesem Experiment kann man schließen, daß $K_2Cr_2O_7$ wenigstens im Laufe von 48 Stunden in das Protoplasma nicht eindringt.

NaOH und KOH.

Ätzende Laugen wurden in verschiedensten Konzentrationen geprobt; anfänglich rufen sie eine Plasmolyse hervor, welche eine kurze Zeit anhält und darauf dringen sie ins Plasma ein und lösen es auf.

Säuren.

H_2SO_4 , HCl , HNO_3 nicht verdünnt und auch 5 und 10 Proz. dringen rasch durch die Hüllen und töten das Protoplasma. Wenn man die Säure unter das Deckglas gibt und unter dem Mikroskop beobachtet, so kann man ein rasches Eintreten einer kurzdauernden Plasmolyse bemerken. Es ist interessant anzumerken, daß AUERBACH¹⁾ Salzsäure benutzte um die Ecto- und Entocyste deutlich zu sehen; dabei beobachtete er, ohne es zu vermuten, Plasmolyse und Fältchen der Intimocyste.

„Das ganze war sichtlich von einer Hülle, und zwar, wie man schon jetzt vermuten konnte, einer doppelten umschlossen, denn es zeigte dieselbe eine innere, sehr dunkle, aber scharfe und eine äußere wie aus feinen Körnchen zusammengesetzte Kontour. Im natürlichen Zustande umschloß die Hülle ihren Inhalt ganz dicht; durch Zusatz eines Tropfens Salzsäure aber konnte man sie isolieren, indem sich dadurch der Inhalt zusammenzog. Diese Zusammenziehung geschah übrigens immer in einer eigentümlichen Weise (s. Fig. 2), so nämlich, daß ein rundlicher, nach einer Seite aber

¹⁾ L. AUERBACH: Über Encystierung von *Oxytricha pellionella*. Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. V. 1853. p. 490.

etwas zugespitzter Körper entstand, an dessen Oberfläche einige tiefe Furchen schief herumliefen.“

Glycerin.

8. Februar 1916. 14 Cysten sind in 30 proz. Glycerin gelegt. Die Ecto- und Entocysten haben sich höchst schnell eingebogen, der Zentralkörper bekam eine biskuitartige Form, dieselbe Form hatten auch die Cysten selbst. Bis zum 13. Februar blieben die Cysten in solchem Zustand, darauf stellten sich Ecto- und Entocysten her und die Cysten gewannen das zur Zeit der Plasmolyse übliche Aussehen. Die Plasmolyse hielt ohne Veränderungen während 10 Tagen bis zum 23. Februar an, und darauf begann der Zentralkörper höchst langsam sich herzustellen und erst im März füllte er die Entocyste vollständig aus. Die Cysten waren sehr durchsichtig — klärten sich vom Glycerin. 5 und 10 proz. Glycerin biegt die Ecto- und Entocysten nur wenig ein, sofort tritt eine starke Plasmolyse ein, welche ohne Veränderung über 20 Tage beobachtet wurde, darauf wurden die Cysten in Teichwasser übergetragen, in welchem die Plasmolyse rasch verschwand. Dann wurden die Cysten wiederum in 5 proz. Glycerin übergetragen, — eine starke Plasmolyse. Nach 2 Tagen wurden die Cysten in destilliertes Wasser übergetragen — die Plasmolyse verschwand. Die Cysten wurden in zwei Partien eingeteilt, die eine wurde in Teichwasser gelegt, die andere — in 1 m NaCl. Im zweiten Falle ist die typische Größe der Plasmolyse für die gegebene Konzentration; nach 3 Tagen wurden diese Cysten, mit destilliertem Wasser gut gewaschen, in Teichwasser gelegt. Im Wasser hatten die Cysten das für lebende Cysten typische Aussehen, doch gelang es weder die erste, noch die zweite Partie zum Excystieren zu bringen, möglich weil die beim Experiment benutzten Cysten vor mehr als 1½ Jahren sich gebildet hatten und, wie das Experiment zeigt, sind solche Cysten sehr schwer zum Ausschlüpfen zu bringen.

Schluß: Das Glycerin drang in Konzentrationen 5 und 10 Proz. augenscheinlich in das Plasma nicht ein.

Rohrzucker.

Sogar in sehr starken Lösungen von Rohrzucker hielt die Plasmolyse über 30 Tage — bis zum Ende des Experimentes — an.

Pikrinsäure.

Gesättigte Lösung. 9. April 1915. 3 Uhr 55 Min. Das Plasma zieht sich kaum merklich zusammen, der Kern beginnt scharf hervor-

zutreten, das Protoplasma selbst wird gelb und dann braun — die Cyste ist fixiert. Um 4 Uhr 25 Min. sind die Cysten undurchsichtig. Pikrinsäure dringt leicht durch die Hüllen.

Formalin.

15proz. Formalin dringt während einigen Sekunden ein. In 8proz. Formalin ist schon nach $2\frac{1}{2}$ Min. ein starkes Zusammenziehen des Plasmas zu bemerken, das letztere ist noch nicht gebräunt. Nach 20 Min. dasselbe. Nach 35 Min. wurde die Cyste braun — Formalin ist eingedrungen. In 4proz. Formalin am 13. April 1915, 11 Uhr 30 Min., nach 2 Min. ist die Plasmolyse bemerkbar, welche viel langsamer eintritt als in 8proz. Nach 3 Stunden 8 Min. seit dem Anfang des Experimentes hielt die Plasmolyse an, das Plasma wurde nicht braun. Am 14. April ist die Plasmolyse verschwunden, die Cyste wurde braun.

Somit dringen die angezeigten Lösungen des Formalins ziemlich rasch in die Cyste ein, aber dennoch können wir bei 4 Proz. ziemlich lange die Plasmolyse beobachten.

Methyl- und Äthylalkohol.

CH_3OH und $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ rufen in schwachen Konzentrationen (5—10—15 Proz.) eine starke Plasmolyse hervor, welche ziemlich lange dauert — bis einige Stunden, und darauf dringen die Alkohole in das Plasma ein. 1,8proz. Methylalkohol ruft keine Plasmolyse hervor.

Außer den angezeigten Stoffen habe ich Experimente über die Wirkung von KCN auf die Cysten von *Pleutr. lanceolata* angestellt ¹⁾.

KCN.

Den 16. August 1916. 3 Uhr 25 Min. 1 m KCN. Es wurden in die Lösung ungefähr 80 Cysten von *Pleutr. lanceolata* gelegt. Schnell tritt eine sehr starke Plasmolyse ein. Die Ectocyste biegt sich nicht ein. Plasmolyse ist nach 2 Stunden verschwunden. KCN 0,5 m. Die Cysten sind an demselben Datum um 10 Uhr 50 Min. in diese Lösung gelegt. Plasmolyse. 11 Uhr 5 Min. dasselbe. 1 Uhr. In einige Cysten ist KCN eingedrungen. Die Plasmolyse verschwand bei allen Cysten gegen 3 Uhr.

Somit kann man annehmen, daß 0,5 m KCN nach 3—4 Stunden eindringt. In 0,25 m KCN hielt die Plasmolyse über 6 Stunden,

¹⁾ In allen Experimenten, die oben erwähnt wurden, wo kein Objekt angezeigt ist, muß man Cysten von *St. mytilus* verstehen.

bis zum Abbrechen des Experimentes an. Da ich mit KCN nur diese Experimente angestellt habe, bin ich gezwungen, mich sehr vorsichtig über dessen Wirkung auf die Cysten auszusprechen.

IV. Die Bestimmung des osmotischen Druckes in Cysten von *Stylonychia mytilus*.

Wie wir sahen, erlaubt uns das Existieren der Grenzkonzentration, unter welcher keine Plasmolyse beobachtet wird, sowie eine große Standhaftigkeit der Entocyste, an welche der Zentralkörper dicht anliegt, den osmotischen Druck ziemlich genau zu bestimmen. Genügend genau wurden von mir Experimente nur mit NaCl, KCl und $MgSO_4$ angestellt. Ich benutzte reine Präparate von KAHLBAUM und zweimal in Schott'schem Glasgeschirr destilliertes Wasser. Die Cysten wurden gründlich gewaschen in Lösungen von derselben Konzentration (3—4 Abwechslungen beim Durchschütteln), in welchen sie nachher auch beobachtet wurden, t^0 während aller Experimente = $18^0 C$.

NaCl.

Es wurden 3 Serien von Experimenten angestellt. Zwei identische Serien und die dritte auf mittlere Zahlen. Es erwies sich immer, daß eine Anzahl von Cysten keine Plasmolyse gibt; solche Cysten, auf hohe Konzentrationen geprüft, erwiesen sich als leblose, was man schon nach dem Aussehen ihres Plasmas vermuten konnte. Jetzt bleibt es uns festzustellen, welche Cysten für plasmolysierte gehalten werden können. Eigentlich ist das erste Merkmal der Plasmolyse eine scharfe Doppelkontur der Entocyste vereint mit leichter Runzligkeit der Oberfläche des Zentralkörpers, welche zweifellos von den schon sich bildenden Fältchen der Intimocyste abhängt. Aber aus Bequemlichkeit beim Durchmustern halte ich für plasmolysiert nur diejenigen Cysten, in welchen der Zentralkörper wenigstens in einem Punkte von der Entocyste absteht.

In den Grundserien wurden die Cysten, welche Plasmolyse gaben, aus dem Gefäß, in dem die Beobachtungen durchgeführt wurden, herausgeholt und wurden in der angegebenen Konzentration während einiger Tage liegen gelassen, um die Möglichkeit des Angewöhnens zu prüfen, besonders in schwachen Konzentrationen. Wenn es im allgemeinen ein Angewöhnen auch gibt, so nur nach einer langen Frist; in meinen Kontrollen bemerkte man nach 4—5 Tagen fast keine Veränderungen in der Stärke der Plasmolyse.

Serie I. Cysten von *Stylonychia mytilus*. November 1916.

1.	150	Cysten	gelegt	in	0,130	m	NaCl ¹⁾	{	0	plasmolysierte
								{	0	umgekommene
2.	150	"	"	"	1,143	"	"	{	4	Cysten plasmolysiert
								{	2	umgekommene
3.	144	"	"	"	0,153	"	"	{	6	Cysten plasmolysiert
								{	2	umgekommene
4.	136	"	"	"	0,163	"	"		66	Cysten plasmolysiert
5.	70	"	"	"	0,173	"	"	{	1	Cyste plasmolysiert
								{	6	umgekommene
6.	63	"	"	"	0,183	"	"		25	Cysten plasmolysiert
7.	38	"	"	"	0,193	"	"	{	22	Cysten plasmolysiert
								{	1	umgekommene
8.	15	"	"	"	0,203	"	"		3	Cysten plasmolysiert.

Die gebliebenen 12 Cysten sind in 0,3 m NaCl übertragen worden. Eine starke Plasmolyse, welche bei 4 Cysten nach 30 Min. verschwand. Daraus muß man schließen, daß diese 4 Cysten den lebensunfähigen zuzuzählen sind; bei den anderen hielt die Plasmolyse standhaft an — man muß annehmen, daß ihre Isotonie höher als 0,203 m NaCl ist. Wenn man 15 lebensunfähige Cysten ausschließt, so kann man aus 135 Cysten, welche Plasmolyse gaben, eine folgende Tabelle für NaCl ($t^0 = 18^\circ \text{C}$) zusammenstellen.

1.	0,143	m	4	Cysten	2,33	Proz.
2.	0,153	"	6	"	4,44	"
3.	0,163	"	66	"	48,88	"
4.	0,173	"	1	"	0,74	"
5.	0,183	"	25	"	18,52	"
6.	0,193	"	22	"	16,30	"
7.	0,203	"	3	"	2,22	"
8.	> 0,203	"	8	"	5,93	"
135					99,66—100	Proz.

Wir ersehen, daß die Mehrzahl der Cysten in Konzentrationen 0,163 m, 0,183 m und 0,193 m plasmolysiert. Somit muß man das erste Maximum²⁾ nahe zu 0,163 annehmen. Das zweite Maximum

¹⁾ Ein Experiment dauerte gewöhnlich 5—7 Stunden, Durchwaschen $1\frac{1}{2}$ bis 2 Stunden.

²⁾ Es kann möglich sein, daß ich anfangs unwillkürlich die Anzahl der plasmolysierten Cysten übertrieben habe, weil ich eine Anzahl der im ersten Stadium der Plasmolyse weilenden Cysten hinzufügte.

liegt in Grenzen $> 0,173$ m und $< 0,193$; das mittlere — $0,188$ m. Durchschnittlich erhalten wir — $0,1755$ m. Summieren wir das ganze Experiment, Nr. 1, 2, 7 und 8 ausgenommen, so erhalten wir $0,1732$ m. Somit können wir als mittlere $0,174$ m NaCl annehmen.

Die zweite Serie der Experimente, der ersten identisch mit dem Unterschiede, daß die plasmolysierten Cysten nicht ausgesucht wurden, sondern die ganze Menge in die nächst folgenden Konzentrationen übertragen wurde, gab $0,176$ m (dabei wurden keine so stark ausgesprochenen maximalen Ziffern erhalten). Es scheint mir, daß für unsere biologischen Zwecke man sich mit hundertsten Teilen m begrenzen könnte, aber ich will sogleich bemerken, daß *St. mytilus* so empfindlich sind, daß sie mit einer Veränderung in der Plasmolyse sogar auf geringe Veränderungen der Konzentrationen reagiert.

Die dritte Serie bestand darin, daß eine große Partie der Cysten (über 300 Stück) in $0,175$ m NaCl eingetragen war — in diesem Falle wurden 52 Proz. plasmolysierter Cysten erhalten. Somit wird die Isotonie für NaCl $0,173$ – $0,175$ m sein. Wir können $0,174$ annehmen.

Serie IV. $MgSO_4$. Cysten von *St. mytilus*. November 1916.

1.	230	Cysten in	0,110	m	MgSO ₄	gelegt.	Die Plasmolyse fehlt.
2.	230	"	"	0,120	"	"	{ 6 Cysten plasmolysiert 1 umgekommen
3.	223	"	"	0,1284	"	"	
4.	212	"	"	0,1368	"	"	{ 23 plasmolysiert 1 umgekommen
5.	188	"	"	0,1452	"	"	
6.	140	"	"	0,1536	"	"	{ 47 plasmolysiert 1 umgekommen
7.	46	"	"	0,1620	"	"	
8.	17	"	"	0,1800	"	"	{ 94 plasmolysiert 10 plasmolysiert 19 umgekommen ¹⁾ 5 plasmolysiert 12 umgekommen (nach kurzer Plasmolyse).

Die 34 umgekommenen Cysten ausgeschlossen, haben wir für 196 lebensfähige Cysten folgende Resultate:

¹⁾ Es ist interessant anzumerken, daß in umgekommenen Cysten, nach ziemlich langem Liegen in schwachen Salzlösungen, das Plasma oder eher irgendwelche feinkörnige Zerfallreste desselben durch die Entocyste dringen (sich zwischen Ento- und Ectocyste befinden).

1.	0,120	m	6	Cysten	3,06	Proz.
2.	0,1285	„	11	„	5,61	„
3.	0,1368	„	23	„	11,53	„
4.	0,1452	„	47	„	24	„
5.	0,1536	„	94	„	47,96	„
6.	0,1620	„	10	„	5,1	„
7.	0,1800	„	5	„	2,55	„

Nr. 1 und 7 ausgeschlossen erhalten wir die mittlere Zahl für $\text{MgSO}_4 = 0,1483-0,1485$ m. Die zweite Serie, derselben für NaCl identisch, gab 0,1475 m. Serie 3 mit 400 Cysten gab für diese Konzentration ungefähr 51 Proz. Somit ist die mittlere Isotonie für $\text{MgSO}_4 = 0,1475-0,1485$ m.

Serie V. KCl . Cysten von *St. mytilus*. November 1916.

1.	90	Cysten	in	0,144	m	KCl	{	4 Cysten plasmolysiert
							{	1 umgekommen
2.	85	„	„	0,1564	„	„	{	3 Cysten plasmolysiert
							{	1 umgekommen
3.	81	„	„	0,165	„	„		6 Cysten plasmolysiert
4.	75	„	„	0,1742	„	„	{	24 Cysten plasmolysiert
							{	3 umgekommen
5.	48	„	„	0,1876	„	„	{	26 Cysten plasmolysiert
							{	3 umgekommen
6.	19	„	„	0,1978	„	„		19 Cysten stark plasmolysiert.

Somit haben wir, die umgekommenen ausgeschlossen, 82 lebensfähige Cysten.

1.	0,144	m	4	Cysten	4,88	Proz.
2.	0,1564	„	3	„	3,66	„
3.	0,165	„	6	„	7,31	„
4.	0,1742	„	24	„	29,27	„
5.	0,1876	„	26	„	31,71	„
6.	0,1978	„	19	„	23,17	„

Die mittlere Zahl — 0,180 m; 1, 2 und 6 ausgeschlossen, wie es bei den vorhergehenden Serien geübt wurde, haben wir die mittlere Zahl = 0,179 m. Da wir in unseren Kulturen keine genügende Anzahl von Cysten besaßen, gelang es uns nicht die Kontrolle auf auf 50 Proz. anzustellen. Das Experiment mit KCl muß man für weniger genau als mit NaCl und MgSO_4 annehmen. Leider verfügte ich nicht über reine Zucker und die nötige Anzahl von Cysten, wodurch ich gezwungen war, mich nur mit diesen Bestimmungen des osmotischen Druckes zu begnügen.

Das Experiment summierend erhalten wir folgende Zahlen (aus der Tabelle LOOMIS' extrapolierend):

0,598 Δ — 0,174 m NaCl	— Δ 0,6061—7,295 Atmosphären.
— 0,1485 „ MgSO ₄	— Δ 0,6169—7,430 „
0,609 Δ — 0,179 „ KCl	— Δ 0,6146—7,400 „

V. Die Eigenschaften der Intimocyste.

Die osmotischen Erscheinungen in der Form, wie sie in den Cysten der *Hypotricha* zum Ausdruck kommen, wie auch die Wirkung von Salzen, Säuren, Laugen, organischen Stoffen und Farben in betreff des Eindringens in das Plasma der Cysten zwingen folgende Fragen aufzustellen:

1. Wovon hängt die Undurchlässigkeit der Cysten für Salze und organische Stoffe ab, oder, mit anderen Worten, hängen die osmotischen Erscheinungen von den Eigenschaften der Halbdurchlässigkeit einer von den Hüllen der Cysten, oder dem Plasma der Cysten selbst ab?

2. Welche von den dreien von uns angenommenen Hüllen besitzt die Eigenschaften der Halbdurchlässigkeit? Ist die Intimocyste (die dritte Hülle) real? und falls diese Frage positiv entschieden wird, ist sie nicht der Pellicula identisch und wie ist ihre chemische Zusammensetzung?

Die erste Frage können wir folgenderweise beantworten: es ist zweifellos, daß die Ecto- und die Entocysten für alle von uns angewandten Stoffe vollkommen durchlässig sind, — dies erfordert keine besondere Interpretation und folgt klar aus allen oben erwähnten Experimenten. Somit kann die Rede nur von der Intimocyste und von dem Plasma selbst sein, mit anderen Worten, — von der Realität der Intimocyste. Unter dem Mikroskop, beim Durchmustern der plasmolysierten Cysten, ist diese Hülle minder real, als die Ectocyste und die Entocyste. Zweifellos zeigt ihre Faltigkeit darauf hin, daß, trotz des engen Zusammenhanges mit dem Protoplasma, sie eine selbständige Bildung ist und jedenfalls, wenn sie beim Einbringen in hypertonische Lösung auch Wasser verliert, so in einer anderen Proportion als das Plasma der Cyste. Die Intimocyste kann von dem Plasma abgeteilt werden, was mir fast immer folgenderweise gelang: Cysten von *St. mytilus* wurden während 2 Minuten in 2proz. Osmiumsäure fixiert und dann auf 5—10 Minuten in 15proz. Formalin übertragen oder unmittelbar auf die angegebene Zeit in Formalinlösung gelegt. Im Formalin

zog sich der Zentralkörper zusammen (Intimocyste + Plasma), wurde bräunlich, mit anderen Worten wurde fixiert. Danach wurden die Cysten in destilliertes Wasser übertragen. Der Zentralkörper dehnte sich etwas aus und von der Oberfläche des Plasmas begann die dritte Hülle — die Intimocyste sich abzulösen, was man ganz deutlich auf der Mikrophotographie 4 Taf. 5 sieht, allmählich ging die Hülle bei mehreren Cysten auf $\frac{1}{2}$ — $\frac{3}{4}$ ihrer Ausdehnung ab. Für gutes Gelingen dieses Experimentes ist der Grad der Plasmaverfestigung von großer Bedeutung. Man konnte auch noch denken, daß die Intimocyste eigentlich keine völlig selbständige Hülle sei, indem man sie z. B. als eine verdichtete Peripherieschicht deutet, aber das ändert an der Sache nichts und außerdem muß man die Meinung, daß sie eine besondere Hülle sei, für richtiger halten dank ihrer bedeutenden Dichte, ihrem Verhalten verschiedenen Stoffen gegenüber und wie wir es weiter sehen werden, der Art ihrer Entstehung beim Encystieren.

Somit müssen wir die Frage über die Realität der Intimocyste im morphologischen Sinne positiv entscheiden.

Es bleibt uns jetzt die letzte der von uns aufgestellten Fragen durchzusehen — was die Halbdurchlässigkeit der Cyste bestimme, das Plasma oder die Intimocyste und das Verhalten der letzteren zur Pellicula.

An vollkommen fertigen Cysten gelingt es nicht diese Frage zu entscheiden — wenigstens konnte ich nicht die Intimocyste isolieren, ohne dabei das Plasma zu töten.

Versuchen wir das uns interessierende Problem auf Umwegen zu lösen. Stellen wir uns eine Kultur vor (es ist recht bequem in niedrigen Petrischalen zu arbeiten), in welcher der Prozeß des Encystierens lebhaft vor sich geht und wo folglich Cysten von verschiedenen Stadien der Hüllenbildung sich vorfinden. Legen wir solche Cysten in 1 oder 0,5 m NaCl. Sofort werden wir bemerken, daß das Plasma in allen Cysten sich zuerst zusammenzieht, dann aber verschwindet die Plasmolyse bei vielen Exemplaren rasch, bei anderen aber bleibt sie und währt wie immer lange Zeit. Was soll das bedeuten? Zweifellos nur das, daß nicht auf allen Stadien des Encystierens die Cysten für diese Lösungen undurchlässig sind. Wenn das der Fall ist, so ist es für uns notwendig aufzuklären, in welchem Moment die Eigenschaften der Halbdurchlässigkeit auftreten. Dazu lesen wir die Cysten von gleichem Alter aus, was leicht auszuführen ist, das von mir vorgeschlagene Schema (l. c.) für die Cysten von *St. mytilus* beachtend.

1. Cysten, die nur eine Ectocyste haben (nach der ersten Drehung). Bei der Wirkung 0,5 m NaCl erfolgt ein Zusammenziehen, darauf nach 1—2—3 Minuten dehnt sich das Plasma — das Salz ist in das Plasma eingedrungen.

Folgerung: die Ectocyste und das Protoplasma selbst sind für NaCl durchlässig.

2. Cysten, welche eben erst die Entocyste ausgeschieden haben (gegen Ende der zweiten Drehung und nach ihr). Die Plasmolyse hält etwas länger als 4—5 Minuten an; dann dehnt sich das Plasma — Salz ist in das Plasma eingedrungen. An solchen Cysten kann man eine höchst interessante und für uns wichtige Eigentümlichkeit bemerken.

Wenn wir während der Plasmolyse (eigentlich des Zusammenziehens) die Oberfläche des zusammengezogenen Plasmas aufmerksam beobachten, so können wir sehen, daß es keine Intimocyste gibt, mit anderen Worten, daß die für die Intimocyste so charakteristischen Fältchen auf der Oberfläche des zusammengezogenen Plasmas vollkommen fehlen. Das Plasma ist nackt, wovon man sich leicht überzeugen kann, wenn man die Mikrophotographie 3 Taf. 5 ansieht.

Dieses Experiment zeigt, daß die Cyste sogar nach der Ausscheidung der Entocyste die Eigenschaften der Halbdurchlässigkeit noch nicht besitzt. Somit sind die Entocyste und das Plasma selbst für NaCl durchlässig. Zugleich wissen wir sehr gut, daß wir eine typische Plasmolyse erhalten, wenn wir nach einigen Tagen die Cysten aus der gegebenen Kultur in dieselbe Lösung bringen, und während der Plasmolyse werden wir die Möglichkeit haben, die so charakteristischen Fältchen der Intimocyste zu beobachten (Taf. 5 Fig. 2).

Was soll das heißen? Mir scheint es, daß daraus nur eine Folgerung gezogen werden kann, nämlich, daß nach der Bildung der Entocyste die dritte Hülle — meine Intimocyste konstruiert wird, welche die Plasmolyse bedingt. Somit hängen die Eigenschaften der Halbdurchlässigkeit der Cysten von der Bildung der Intimocyste ab. Ist das der Fall, dann stellt man sich unwillkürlich die Aufgabe, den Moment der Bildung der Intimocyste genauer festzustellen, bzw. der Entstehung der Eigenschaften der Halbdurchlässigkeit. Dank meiner früheren Beobachtungen wußte ich, daß die Entocyste sich endgültig nach der zweiten Drehung ver-

vollständig. Also haben wir einen Punkt, von welchem man ausgehen kann. Die Experimente wurden mit Cysten von *St. mytilus* und *Pleutr. lanceolata*¹⁾ (NaCl 1 m und 0,5 m) angestellt. Ich führe die Angaben für *St. mytilus* an.

Zeit in Minuten nach Bildung der Entocyste	Zeit während der die Plasmolyse anhält
20 } 40 }	5—10 Min. { Fältchen der Intimocyste sind nicht zu merken.
80 } 160 }	20—40 Min. { Die Oberfläche des Plasmas ist nicht nackt, aber die Fältchen der Intimocyste unklar.
320 640 1200	{ Die Intimocyste ist typisch, Plasmolyse wurde während 10 Tagen beobachtet, d. h. bis zum Aufheben des Experimentes.

Jetzt bleibt uns die letzte von den von uns aufgestellten Fragen zu entscheiden. Ob die Intimocyste der Pellicula identisch sei? Eigentlich ist diese Frage überflüssig, da es uns gut bekannt ist, daß die aktiven Formen die von uns angewandten Konzentrationen nicht vertragen. Aber vielleicht spielt hier eine Rolle die Mundöffnung? Ich stellte Experimente mit Astomata an, wobei es sich erwies, daß diese Infusorien hohe Konzentrationen der Salze nicht ausstehen. Natürlich kann man gegen solch ein Experiment vieles einwenden. Weiter, beim Excystieren, während des Auflörens der Entocyste und vielleicht noch früher, verlieren die Cysten von *St. mytilus* ihre Undurchlässigkeit für 0,5 m NaCl. Die aus den Cysten ausgehenden aktiven Formen gehen ebenso rasch in dieser Lösung zugrunde. Dies alles überzeugt uns, daß die Halbdurchlässigkeit der Cysten der Hypotricha von der dritten Hülle — der Intimocyste abhängt. Was für Funktionen haben dann die ersten zwei Hüllen? Wenn wir unter dem Mikroskop die trocknen Cysten von *St. mytilus* untersuchen, so werden wir sehen, daß ihre Ectocyste zerknittert ist, beinah ganz dicht an der Entocyste liegt, welche ihre runden Umrisse gut bewahrt; das Plasma ist stark zusammengezogen und liegt in Form eines unregelmäßigen Kügelchens, ziemlich weit von der Entocyste entfernt. Wir sahen, daß die Ectocyste und die Entocyste Salze leicht durchlassen, die Intimocyste

¹⁾ Die Cysten wurden aus den Kulturen während der zweiten Drehung ausgelesen; bis eine genügende Anzahl von Cysten sich ansammelte, verging ziemlich viel Zeit, so daß die Drehung in einigen Cysten sich einstellte. Somit können wir annehmen, daß die Entocyste sich vollkommen gebildet hat.

dagegen läßt sie nicht durch. Mir, als Morphologen, fällt es sehr schwer mich von der folgenden Ansicht auf die Hüllen abzusagen: die Ectocyste + Entocyste erscheinen als ein mechanischer Schutz der encystierten Infusorien, indem sie das Plasma gegen verschiedene grobe mechanische Einwirkungen schützen; es ist möglich, daß sie eine Rolle spielen, indem sie der Wirkung der Oberflächenspannung in den letzten Momenten des Austrocknens widerstehen. Die Intimocyste aber erscheint laut diesem Schema als chemischer Schutz, indem sie keinen schädlichen Einfluß zuläßt wie z. B. der wachsenden Konzentration der Salze beim Austrocknen. Zum Beweis dieser Ansicht habe ich folgendes Experiment angestellt. Die an dem Objektglase befestigten¹⁾ Cysten von *St. mytilus* wurden in 1 m NaCl plasmolysiert um den Zentralkörper von der Entocyste zu entfernen und darauf wurden mittels feiner Nadelchen unter dem Binokular die beiden ersten Hüllen (Ectocyste + Entocyste) zerstört. Der Zentralkörper schwamm ohne jegliche Veränderung in der Salzlösung. Darauf trug ich sie (3 Stück) in 0,175 m NaCl über, worin die Zentralkörper ihren normalen Diameter wieder erreicht haben, d. h. denselben, welchen sie vor dem Experimente hatten. Beim weiteren Antrocknen platzten die Zentralkörper sofort, als sie von oberflächiger Wasserschicht berührt wurden. Die Intimocyste schützt augenscheinlich vor dem Zerdrücken nicht.

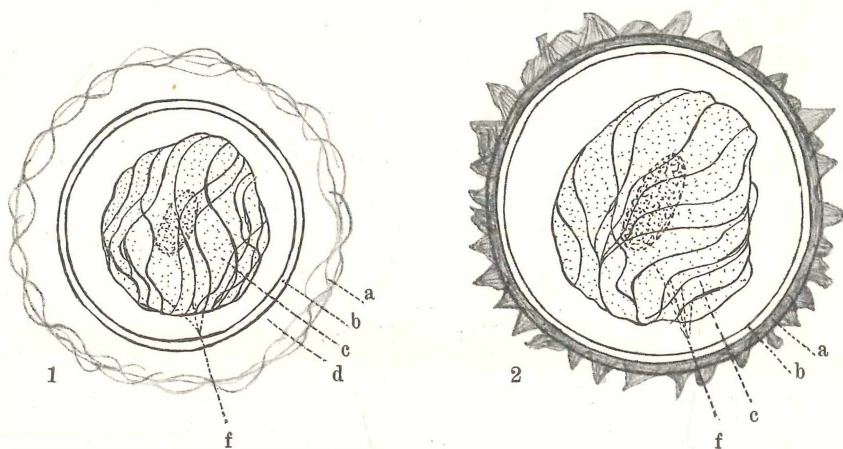
Wie ist der chemische Bestand der Intimocyste? Wir sahen, daß Säuren, Laugen, Sublimat, Formalin, Pikrinsäure, Alkohole und desgleichen sie durchdringen. Wenn man die Cysten mit Pepsin und Trypsin bearbeitet, so ist es unmöglich, die Intimocysten zu entdecken. Freilich, kategorisch kann ich mich nicht äußern, es scheint mir aber, daß sie aus einem Eiweißstoff bestehe. Möglich, daß ihre gewisse Unstandhaftigkeit in bezug auf Salze man als günstig für ihre Eiweißnatur aus folgendem Experimente deuten kann: 2 Partien Cysten von *St. mytilus* wurden, eine in 3 m NaCl und die andere in RINGER-Lösung, wo die Konzentration NaCl 3 m betrug, mit entsprechender Erhöhung der Konzentrationen anderer Komponenten, gelegt. In 3 m NaCl verschwand die Plasmolyse bei allen Cysten nach 5×24 Stunden, in 3 m NaCl + 0,15 m CaCl_2 + 0,3 m KCl²⁾

¹⁾ Dies ist notwendig zu machen, sonst gelingt es nicht die Hülle zu präparieren. Man kann sie befestigen, indem man entweder im voraus das Glas mit Eiweiß bestreicht oder, was noch besser ist, die Häutchen, worin es Cysten gibt, an dem Objektträger antrocknet. Bei nächstfolgender Aufweichung bleiben die Cysten einstweilen befestigt.

²⁾ Die Konzentration CaCl_2 und KCl ist bedeutend höher genommen als in der Lösung von RINGER. NaHCO_3 ist ausgelassen.

hielt die Plasmolyse während 15×24 Stunden an. Somit ist die Wirkung der Salze-Antagonisten für die Intimocyste nicht gleichgültig. Alles oben dargelegte beachtend, müssen wir das von uns für die Einteilung der Cysten der Hypotricha in Gruppen angenommene Schema verändern, indem wir den dort dargestellten 2 Hüllen — Ecto- und Entocyste, eine dritte — die Intimocyste hinzufügen. In diesem neuen Schema sind die Cysten so dargestellt, als wenn sie plasmolysiert wären (Textfig. D).

Wir sind zur Überzeugung gelangt, daß die Intimocyste der Pellicula nicht identisch ist, mit anderen Worten, daß sie eine Bildung sui generis ist, welche den Infusorien während ihres aktiven



Textfig. D. Arten der Cysten.

1. Cyste der ersten Gruppe. 2. Cyste der zweiten Gruppe. a) Ectocyste, b) Entocyste, c) Plasma, f) die Fältchen der Intimocyste, d) Raum zwischen Ecto- und Entocyste in Cysten der ersten Gruppe.

Lebens gar nicht eigen ist. Zweifellos erscheint diese Hülle, kraft ihrer obenerwähnten Eigenschaften als eine Schutzwand zwischen dem Plasma und äußerer Welt. Darum kann sie auch zum Vergleich mit den hypothetischen Membranen OVERTON's u. a. nicht verwendet werden, wie verlockend solche Erklärung auch erscheinen mag, dank ihrem (Hülle) untrennbarem Zusammenhange mit dem Plasma. Man darf nicht den Fehler von ZAWADOWSKI wiederholen, welcher in den Eiern von *Ascaris megaloccephala* eine halbdurchlässige lipoide Membran vorfand und daraus schloß, daß er das richtige Fundament unter die OVERTON'sche Theorie gelegt habe. Das Ei ist eine ebensolche nicht funktionierende Zelle¹⁾, wie die Cyste. Und es ist unmöglich bessere

¹⁾ Im Sinne seiner Wechselwirkung mit der Außenwelt.

Beweise sich vorzustellen, daß die Anwesenheit einer lipoiden Membran unüberwindbare Hindernisse dem Aufnehmen und Entfernen verschiedener Stoffe aus dem Plasma stellt, als diejenigen, welche von ZAWADOWSKI in seiner Arbeit angeführt sind.

Die Cysten der *Hypotricha*, scheint es mir, können auch, als den Vorstellungen FISCHER's in bezug auf die Bindung des Wassers durch das Plasma widersprechende, nicht ausgenutzt werden. Freilich, die Intimocyste ist halbdurchlässig, aber der Mechanismus des Aufnehmens oder der Abgabe des Wassers liegt nicht in ihr, sondern in dem Plasma. Die Intimocyste aber selbst, welche den Salzen ins Plasma einzudringen nicht erlaubt, erscheint als ein glücklicher Zufall, welcher in Form der Plasmolyse die Prozesse der Bindung des Wassers durch das Plasma zu beobachten erlaubt.

VI. Kernprozesse in den Cysten *Stylonychia mytilus*.

Es gelingt nicht die Veränderungen im Kernapparate der Schutzcysten der Infusorien auf Totalpräparaten zu erkennen, darum ist es notwendig nach einer sehr guten Fixation den Prozeß auf Schnitten zu studieren. Zum Fixieren benutzte ich verschiedene Flüssigkeiten [SCHAUDINN, BOUIN, FLEMMING (starke Mischung)]. Färbte mit Eisenhämatoxylin nach HEIDENHAIN oder mit sulfalasarinsaurem Natrium und Toluidinblau. Als Objekt dienten mir Cysten von *St. mytilus*, *Bursaria truncatella* und *Pseudocolpoda cochlearis*. In diesem Artikel gebe ich ausführlich das Material nur über *Stylonychia mytilus* an.

Vor der Abkuglung des Körpers bestehen alle Veränderungen im Kern nur darin, daß die Macronuclei und Micronuclei sich einander nähern: irgendwelche besondere Veränderungen gelingt es in dieser Periode nicht zu bemerken. Das Stadium der Absonderung der ersten Hülle ist auf der Taf. 6 Fig. 2 dargestellt. Das Plasma — feinkörnig. Die Macronuclei sind mehr vakuolisiert, als in vegetativen Formen, in ihnen sind ziemlich große sich dunkelfärbende Körnchen bemerkbar. Micronuclei — ohne Veränderungen.

In früheren Stadien der Bildung der Ectocyste kann man auf der Peripherie des zusammengezogenen Plasmas feine Tropfen von verschiedener Größe und Form bald mehr abgerundete, bald flache in Form kleiner Ovalen mit zugespitzten Enden bemerken (Taf. 6 Fig. 2). Diese Bildungen färben sich mittels Eisenhämatoxylin tief-schwarz, und allmählich zusammenfließend bilden sie eine feine äußere

Hülle. Darauf stellt sich Dechromatisation der Macronuclei ein; in dem Plasma erscheint um diese Zeit eine eigenartige Körnigkeit in Form von an und für sich schon körniger Kügelchen; die Micronuclei bleiben bisweilen ohne Veränderung. Die Ectocyste ist schon vollkommen konstruiert und an Schnitten kann man bemerken, daß sie aus den zwei oben erwähnten Schichten besteht — der äußeren, die mittels Eisenhämatoxylin tiefschwarz gefärbt wird, und der inneren, die bedeutend heller gefärbt ist.

Die Stadien während der Bildung der zweiten Hülle sind auf Taf. 6 Fig. 3 dargestellt. Die Macronuclei kommen ganz dicht aneinander, die Dechromatisation nimmt zu, die Körnigkeit im Plasma wird noch intensiver. Die Micronuclei färben sich schwach. Die Entocyste ist zu dieser Zeit schon ganz fertig. An der Peripherie des Plasmas erscheint eine besondere Feinkörnigkeit in Form kleiner manchmal zugespitzter Stäbchen (Taf. 6 Fig. 4). Später fließen die Macronuclei zusammen (Taf. 6 Fig. 5—6). Zu dieser Zeit erreicht die Körnigkeit des ersten Typus ihre maximale Entwicklung und nachher wird sie allmählich blasser und verringert sich in der Zahl. Parallel diesem nimmt die Körnigkeit des zweiten Typus zu (in Form feiner Stäbchen an der Peripherie) (Taf. 6 Fig. 6—7). In dem Kern, welcher durch das Zusammenfließen der Macronuclei entstanden war, bemerkt man große dunkle Körner, welche in den Vakuolen sitzen. Später quillt der Kern auf und dechromatisiert sich rasch (Taf. 6 Fig. 7—9) verschwindet aber nicht. Die Micronuclei können sich ebenfalls dechromatisieren, sind aber immer, ebenso wie der Macronucleus, deutlich bemerkbar, obgleich zu allerletzt nur zwei von ihnen bleiben, sehr große und dunkel gefärbte. Zu dieser Zeit schwinden beinahe alle Körnigkeiten aus dem Plasma, der Macronucleus aber beginnt sich stärker zu färben und verringert sich in seinem Umfang (Taf. 6 Fig. 10). Wenn wir den Schnitt durch eine völlig reife Cyste (Taf. 6 Fig. 11), 8 Monate nach der Bildung betrachten werden, so werden wir sehen, daß das Plasma fast keine Körnigkeiten enthält, der Kernapparat ist durch einen großen bohnenartigen Macronucleus und zwei sich dunkelfärbende Micronuclei dargestellt. Somit bleibt der Macronucleus, welcher durch Verschmelzen zweier Macronuclei der vegetativen Form, im Laufe des ganzen Prozesses der Cystenbildung entstand, ohne Veränderung; man kann nur seine starke Dechromatisation bemerken. Von den Micronuclei bleiben zwei. Ähnliche Resultate in bezug auf Macronucleus erhielt ich auch mit Cysten von *Bursaria truncatella*

und *Pseudocolpoda cochlearis*. FERMOR¹⁾ kam, wie es bekannt ist, in bezug auf Cysten von *St. pustulata* zum Schluß, daß die Macronuclei nach ihrem Verschmelzen allmählich zerfallen und verschwinden. Die Micronuclei verschmelzen ebenfalls in eine Bildung, die im Gegensatz zu den Macronuclei wächst —

„und gibt den gesamten neuen Kernapparat ... Durch eine einfache Durchschnürung teilt er sich in 2 Teile und läßt auf diese Weise 2 neue Micronuclei entstehen. Die neuen Micronuclei werden aus verdichteten Chromatinabschnitten in dem großen Kern gebildet und in das Protoplasma ausgestoßen.“

Freilich habe ich für Cysten von *St. pustulata* keine volle Serie der Veränderungen des Kernapparates, will nur sagen, daß fertige Cysten ihn in ganz derselben Form haben wie *St. mytilus*, mit anderen Worten, einen Macronucleus und 2 Micronuclei. Leider kann man nach der Arbeit von FERMOR den Moment nicht genau feststellen, wann, ihrer Meinung nach, die Micronuclei sich bilden — vor der Teilung des Kernes oder nach ihr; laut dem oben angeführten Zitate könnte man eher das letztere denken — das wäre aber auch für die Cysten von *St. pustulata* ganz falsch. Auf Grund ihrer Beobachtungen hält es FERMOR für möglich anzunehmen, daß

„die Encystierung ersetzt in diesem Falle die Conjugation in der Hinsicht, daß als Resultat derselben wie auch nach der Conjugation ein neues Infusoriengeschlecht auftritt mit einem erneuerten Kernapparat“.

Ich muß gestehen, daß die Angaben von FERMOR mir in hohem Grade zweifelhaft scheinen. Die 4 Zeichnungen welche sie zum Beweis ihrer Funde angibt kann ich für nichts anderes halten, als für Schemata oder für nicht durchgefärbte Totalpräparate; Schnitte durch die Cysten erhält man in solcher Form nicht. Freilich hat der Autor versprochen: „die ausführliche Arbeit wird an anderer Stelle erscheinen“, aber so viel es mir bekannt ist, haben wir bis jetzt diese ausführlichen Angaben noch nicht erhalten.

VII. Folgerungen.

1. Die Schutzcysten der Infusorien besitzen 2 Hüllen — die Ectocyste und die Entocyste.

2. Die Cysten der Hypotricha hinsichtlich der Lage der Hüllen kann man in 2 Gruppen einteilen. Die 1. Gruppe (Cysten

¹⁾ X. FERMOR: Die Bedeutung der Encystierung bei *Stylonichia pustulata* EHRBG. Zool. ANZ. Bd. 42. 1913. p. 380.

vom Typus *St. mytilus*) hat eine Entocyste, welche in einiger Entfernung von der Ectocyste sich befindet. Die 2. Gruppe (Cysten vom Typus *Pleurotricha lanceolata*) — die Entocyste liegt dicht an der Ectocyste (Taf. 6 Fig. 1 u. Textfig. A).

3. Beim Öffnen der Cysten löst sich die Entocyste auf, die Ectocyste aber reißt.

4. Beim Excystieren der Cysten von *St. mytilus* wird ein Stadium beobachtet, wo bei der Rekonstruktion der Wimperdeckung die Lage und die Form der Wimpern an die Wimperbedeckung der *Holotricha* erinnern (Textfig. B).

5. Ectocyste und Entocyste von *St. mytilus*, *St. pustulata* und *Pl. lanceolata* sind in bezug auf die Löslichkeit in NaOH den Hüllen von *Colpoda cucullus* fast identisch.

6. Bei der Wirkung von Salzen und organischen Stoffen auf Cysten der *Holotricha* wird eine dauernde Plasmolyse beobachtet.

7. Plasmolyse wird durch die Anwesenheit der Intimocyste bedingt — einer besonderen dritten Hülle, welche mit dem Plasma untrennbar verbunden ist.

8. Die Intimocyste besitzt die Eigenschaften der Halbdurchlässigkeit, allem Anscheine nach ist sie eiweißartig.

9. Der osmotische Druck in Cysten von *St. mytilus* erreicht 7,4 Atmosphären.

10. Ectocyste und Entocyste bilden einen mechanischen Schutz für die Cyste und die Intimocyste — ihren chemischen Schutz.

11. In Schutzcysten von *St. mytilus* vollzieht sich kein Zerfall der Macronuclei (im Gegensatz zu den Angaben von FERMOR für *St. pust.*). Nach dem Verschmelzen bleibt der Kern als solcher bis zum Öffnen der Cyste.

Zum Schluß möchte ich meinen großen Dank Herrn Professor KOJEWNIKOW äußern, in dessen Laboratorium in Moskau der größte Teil der hier angegebenen Beobachtungen durchgeführt war.

Saratow, August 1923.

Literaturverzeichnis.

- AUERBACH, L.: Über Encystierung von *Oxytricha pellionella*. Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. 5 1853 p. 430, Taf. XXII.
- BALBIANI: Leçons sur les Protozoaires. Journ. d. Micr. 1881.
- BÜTSCHLI, O.: Protozoa. in: BRONN's Klassen u. Ordn. d. Tierreiches. Bd. 1 Abt. 3 1887—89.
- CALKINS, G.: *Didinium nasutum*. 1. The Life History. Journ. of E. Zool. Vol. 19 No. 2 1915.
- CERTES: De l'emploi des matières colorantes dans l'étude des infusoires vivants. C. R. S. d. Biol. 1884.
- : Sur la glycogénèse chez les infusoires ciliés. C. R. T. XC p. 77.
- CIENCOWSKY, L.: Über Cystenbildungen bei Infusorien. Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. 6 1885.
- : Über meinen Beweis für die Generatio primaria. B. de la Classe Phis.-Math. de L'Académie de Sc d. St. Petersbourg No. 390 Bd. XVII 81.
- CLAPARÈDE et LACHMANN: Etudes p. 213.
- COHN, A.: Beiträge zur Entwicklungsgeschichte der Infusorien. Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. 4 1853 p. 253, Taf. XIII.
- : Über die Cuticula der Infusorien. *ibid.* Bd. 5 p. 420.
- CUNNINGHAM: Studien on Soil Protozoa. Zentbl. f. Bakt. Abt. 2 Bd. 39 p. 596.
- DAVENPORT A. NEAL: On the Acclimatization of Organismus to Poisons Chemical Substances. Arch. f. Entwicklungsmechanik Bd. 2 H. 4 1595.
- DOFLEIN: Das System der Protozoen. Arch. f. Protok. Bd. 1 1902.
- ENGELMANN, TH.: Über Fortpflanzung von *Epistylus crassicolis*. Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. X 1860 p. 78.
- : Zur Naturgeschichte der Infusionsthier. *ibid.* Bd. XI 1861 p. 47.
- FABRE-DOMERGUE, P.: Sur les propriétés dialytiques de la membrane du kyste des infusoires. C. R. 1855 p. 101.
- : Recherches anat. et physiologiques sur les infusoires ciliés. Ann. d. sc. Nat. Bd. 5 1888a.
- FERMOR: Die Bedeutung der Encystierung bei *Stylonychia pustulata* EHRBG. Zool. Anzeiger Bd. XLII 1913 p. 380.
- FAURÉ-FREMIET, E.: *Le Mycterothrix tuamotuensis*. Arch. f. Protok. Bd. 20 1910 p. 213.
- GOODEY, T.: The Excystation of *Colpoda cucullus* from its resting cyste etc. Proc. R. Soc. London Vol. 86 B p. 427 1913.
- : A Contribution to our knowledge of the Protozoa of the Soil. *Ibid.* Vol. 84 B p. 165 1911.
- : Investigation on the Protozoa of the Soil.
- HAIME: Observations sur la métamorph. et sur l'organisation de la *Trichoda lynceus*. Ann. d. sc. nat. 1853 p. 109.
- ILOWAISKY, S. A.: Morphologie des Prozesses der Cystenbildung. Russ. Tagbl. zool. Abt. Gesellsch. Antrop. Natur u. Etnogr. N. S. Bd. 2 1915 p. 185.
- : Von der Copulation der *Urostyla flavicans* W. *Ibid.* 1916.
- : Zwei neue Arten und Gattungen der Infusorien aus dem Wolgabassin. Arb. Biol. Wolga St. Bd. 6 Nr. 2 1921.

- LAUTERBORN: Zwei neue Protozoen aus dem Gebiet des Oberrheins. Zool. Anz. Bd. 21 1898 p. 145.
- LINDNER: Die Protozoenkeime im Regenwasser. Biol. Zentralbl. Bd. 19.
- MEUNIER, V.: Sur la résistance vit. des colpodes encystés. Comp. Rend. T. 61 1865 p. 991.
- MOUTON: Sur la plasmolyse. C. R. H. d. Sc. d. L. Acad. d. sc. T. 125 1897 p. 407.
- PROWAZEK, S.: Kleine Protozoenbeobachtungen. Zool. Anz. Bd. 22 1899 p. 339.
- : Der Encystierungsvorgang bei Dileptus. Arch. f. Protistenk. Bd. 3 1904 p. 64.
- PUSCHKAREW, B. M.: Über die Verbreitung der Süßwasserprotozoen durch die Luft. Ibid. Bd. 28 1913 p. 323.
- RHUMBLER, L.: Die verschiedenen Cystenbildungen usw. Zeitschr. f. wiss. Zool. 1888 p. 549.
- ZAVADOWSKI, M.: Von lipoide halbdurchlässige Membran des Eies Ascaris megalocephala. Wiss. Tagebl. Russ. Univ. Schaniawski Moskau Bd. 1 H. 1 1915.
- SCHNEIDER, A.: Beiträge zur Naturgeschichte der Infusorien. Arch. f. Anat. Jahrg. 1 1854 p. 191.
- SOKOLOW, D.: Bildung der sekundären Cysten bei Gastrostyla Steini Eng. Russ. Zool. Journ. Bd. 1 H. 11—12 1917 p. 321.
- STEIN: Der Organismus der Infusionsthiere. Abt. 1.
- WOKER: Über den Einfluß von Salzlösungen auf Colpodencysten. Arch. ges. Physiol. Bd. 159 p. 312.

Tafelerklärung.

Tafel 5.

Alle Mikrophotographien sind ungefähr 700mal vergrößert.

Fig. 1. Ein normales Exemplar der Cyste von *Stylonychia mytilus*.

Fig. 2. Die Plasmolyse der Cyste von *St. mytilus* im 0,5 m NaCl. Es sind zu sehen: Ectocyste, Entocyste und die Fältchen auf der Oberfläche des zusammengezogenen Plasmas—Intimocyste.

Fig. 3. Die Plasmolyse der Cysten von *St. mytilus* vor der Bildung der Intimocyste. Auf der Oberfläche des Plasmas sind keine Fältchen — Plasma ist nackt.

Fig. 4. Die Ablösung der Intimocyste von dem Protoplasma. Intimocyste hat sich von dem Plasma an einer Stelle als eine Blase abgelöst.

Tafel 6.

Fig. 1. *Pleurotricha lanceolata* St. Gezeichnet von einem lebenden Objekt 12. Juni 1916 (ZEISS Obj. $\frac{1}{12}$, Oc. 4; ABBE; 993 X).

Fig. 2—11. *Stylonychia mytilus* St. Gezeichnet nach Schnitten, nach SCHAUDINN fixiert, und durch Eisenhämatoxylin nach HEIDENHAIN gefärbt (ZEISS Ob. Ap. 2 mm Co. Oc. 4).

Fig. 1. Die Cyste; a) Ectocyste, b) Entocyste, c) die Zacken der Ectocyste, c. v. = kontraktile Vakuole. Die Ectocyste hat gewöhnlich das Ansehen eines hellen Reifes zwischen dem Protoplasma und der Hülle.

Fig. 2. Das Stadium der Ausscheidung der ersten Hülle; die Vakuolisierung der Macronucleus; Micronucleus ohne Veränderung. Die Bildung der Ectocyste aus der tropfenartigen Körnigkeit der peripherischen Schicht des Protoplasmas.

Fig. 3. Die gegenseitige Annäherung der Macronuclei; ihre bemerkbare Dechromatisation. Der Anfang der Bildung der zweiten Hülle.

Fig. 4. Die Bildung der zweiten Hülle aus stäbchenartiger Körnigkeit, welche sich in der äußeren Schicht des Plasmas befindet.

Fig. 5—7. Die einzelnen Stadien der Vereinigung der Macronuclei; die Vergrößerung der tropfenartigen Körnigkeit.

Fig. 8 u. 9. Das Anquellen und Dechromatisation des Macronucleus; das völlige Verschwinden der Körnigkeiten.

Fig. 10. Macronucleus vermindert sich in seinen Dimensionen und ist stärker gefärbt; die Körnigkeit ist ganz verschwunden.

Fig. 11. Eine ganz fertige Cyste. Das Plasma enthält keine Körnigkeit. Macro- und Micronuclei sind intensiv gefärbt.

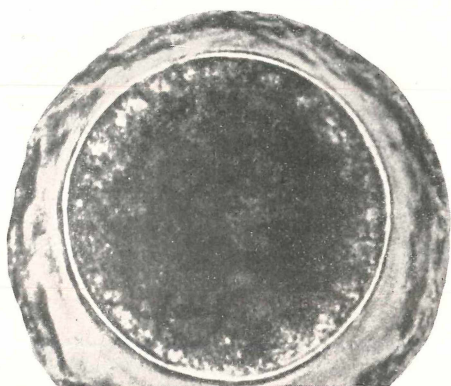


Fig. 1.

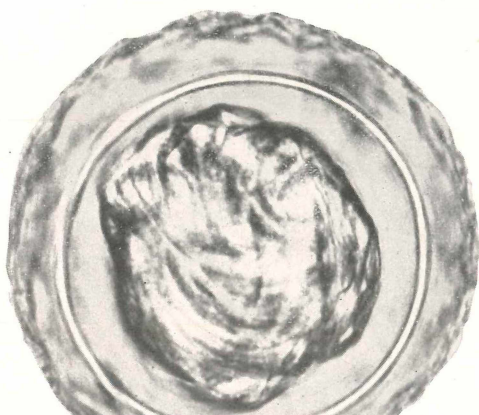


Fig. 2.

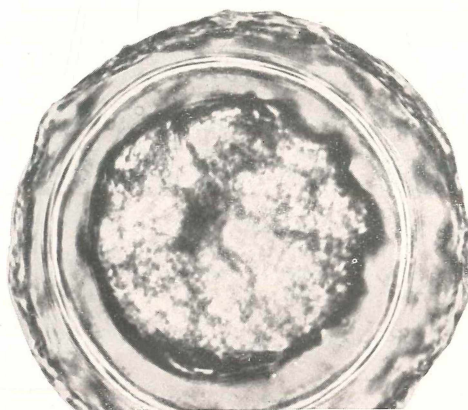


Fig. 3.

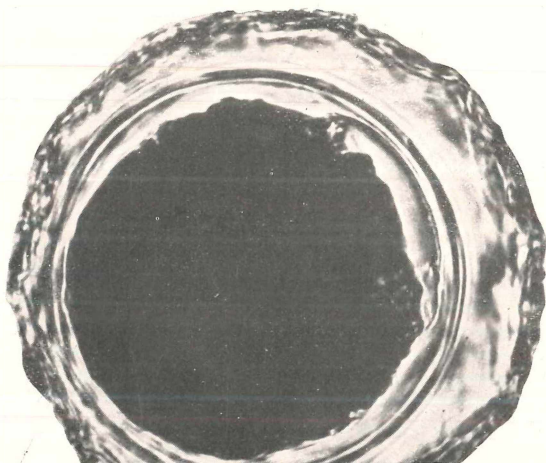
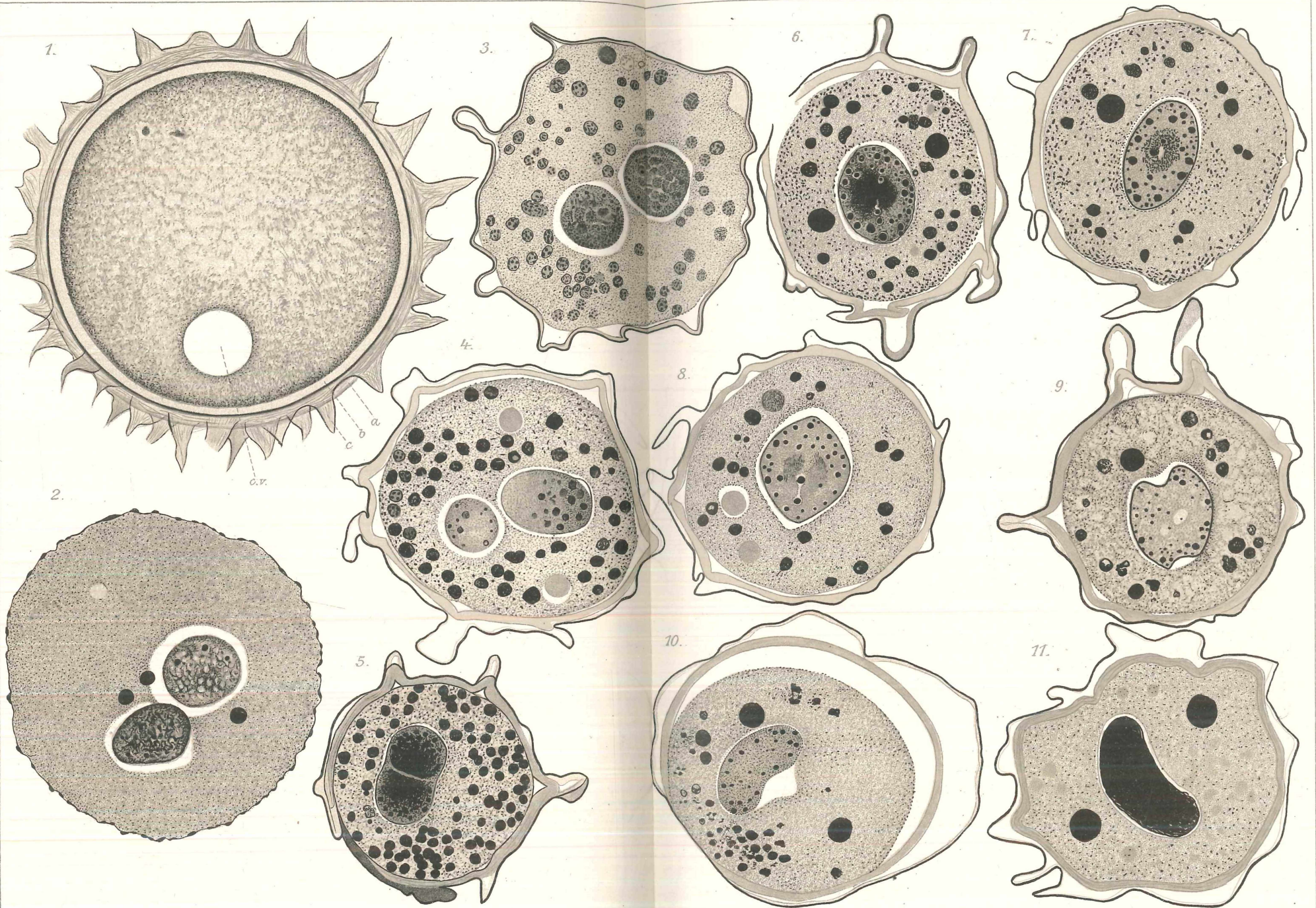


Fig. 4.



ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

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

Jahr/Year: 1926

Band/Volume: [54_1926](#)

Autor(en)/Author(s): Ilowaisky S.A.

Artikel/Article: [Material zum Studium der Cysten der Hypotrichen 92-136](#)