

(Aus dem Zoologischen Institut der Universität Münster in Westfalen.)

Cytologische und vergleichend-physiologische Untersuchungen über *Paramaecium multimicronucleatum* und *Paramaecium caudatum*, zugleich ein Versuch zur Kreuzung beider Arten.

Von

Walter Müller.

(Hierzu 56 Textfiguren und Tafel 4.)

Inhaltsübersicht.

	Seite
A. Einleitung. Problemstellung	362
B. Cytologische und vergleichend-physiologische Untersuchungen über <i>P. multimicronucleatum</i> und <i>P. caudatum</i>	363
I. Der Aufbau des Kernapparates in den Exconjuganten von <i>P. multimicronucleatum</i>	363
a) Variationsbreite in der Zahl der Micro- und Macroanlagen bei <i>P. multimicronucleatum</i>	363
b) bei <i>P. caudatum</i>	377
II. Physiologische Unterschiede zwischen <i>P. multimicronucleatum</i> und <i>P. caudatum</i>	378
a) Nachweis der Unterschiede mit Hilfe der Methoden der Vitalfärbung	378
1. Theoretische Voraussetzungen und Literatur zur Vitalfärbung	379
2. Vitalfärbungsversuche an Paramäcien	380
3. Nachweis der Unterschiede	402
α) Abhängigkeit der Färbung von der Ernährung (Versuchsgruppe 1 und 2)	402
β) Abhängigkeit der Färbung vom pH	413
γ) Vergleich zwischen beiden Arten	420
b) Nachweis der Unterschiede mit Hilfe von Giften und hoher Temperatur	423
1. Bestimmung der Grenzkonzentration für die abtötende Wirkung von arseniger Säure und Äthylalkohol, sowie erhöhter Temperatur bei beiden Arten	423
2. Einfluß derselben Gifte auf die Teilungsrate bei beiden Arten	431
3. Einfluß von Neutralrot in relativ hohen Konzentrationen auf die Teilungsrate	434
c) Beziehungen zwischen Vitalfärbung und Giftwirkung und ihrem Einfluß auf beide Arten	435

	Seite
III. Versuche zur Bastardierung von <i>P. multimicronucleatum</i> und <i>P. caudatum</i>	436
a) Experimentelle Erzeugung von Conjugationsperioden	436
b) Wiederconjuganten und Conjugation von im Reorganisationsprozeß befindlichen Tieren	438
c) Conjugation von Tieren von <i>P. multimicronucleatum</i> mit solchen von <i>P. caudatum</i>	451
Zusammenfassung der Ergebnisse	457
Literaturverzeichnis	459
Tafelerklärung	462

A. Einleitung.

Im hiesigen zoologischen Institut wurden im Jahre 1928 in Kulturen von *Paramaecium caudatum* Tiere gefunden, die in Gestalt, Größe und Lebensäußerung *P. caudatum* äußerst ähnlich waren, sich aber durch das Fehlen des typischen Kleinkerns unterschieden. Als im Laufe der Untersuchungen festgestellt wurde, daß diese Tiere eine wechselnde Zahl sehr kleiner Kerne besaßen, entstand die Frage, ob sie mit der von POWERS und MITCHEL (1910) und LANDIS (1925) beschriebenen Art *P. multimicronucleatum*, für die die beiden ersten Autoren 2—7, LANDIS vier Kleinkerne als charakteristisch angeben, identisch ist. Zu dieser Frage liegen für eine Anzahl von Eigenschaften schon Untersuchungen von einem Mitglied unseres Instituts, Herrn KOESTER vor, in der vorliegenden Arbeit sollen diese Untersuchungen nach der cytologischen Seite hin auf die Verhältnisse bei der Entstehung des Kernapparates nach der Conjugation ausgedehnt werden. Ferner soll, nachdem die Art cytologisch bestimmt ist und auf Grund des Kernbildes von *P. caudatum* unterschieden werden kann, systematisch untersucht werden, ob und inwiefern sie sich physiologisch von dem äußerlich sehr ähnlichen *P. caudatum* unterscheidet. Schließlich soll hieran die Frage geknüpft werden, ob eine Kreuzung beider Arten möglich ist.

Im ersten Teil sollen daher die Kernverhältnisse bei Exconjuganten und die Entstehung von Micronuclei und Placenten (Anlagen des neuen Großkerns) untersucht werden. Im zweiten Teil soll zur Ermittlung physiologischer Unterschiede das Verhalten beider Arten zu Vitalfarbstoffen und Giften festgestellt werden, bei letzteren sowohl der zellschädigende Einfluß als auch der auf die Teilungsrate. Die Untersuchungen über Vitalfärbung führten zu einigen neuen Beobachtungen auf diesem Gebiet, die hier mitgeteilt und diskutiert werden sollen. Der letzte Teil beschäftigt sich im

wesentlichen mit dem Versuch zur Bastardierung beider Arten, dabei müssen zunächst noch zwei weitere Erscheinungen, Wiederconjugation und Conjugation von Tieren, die einen Kernerneuerungsprozeß durchmachen, behandelt werden.

Es sei mir gestattet, meinem hochverehrten Lehrer, Herrn Professor von UBISCH, für die Anregung zu dieser Arbeit und seine stete Anteilnahme an dem Fortgang derselben meinen herzlichen Dank auszusprechen. Ebenso danke ich Herrn Privatdozent Dr. KOSWIG für das Interesse, das er meiner Arbeit entgegenbrachte, sowie Herrn Dr. KRÜGER für seine wertvollen Ratschläge in chemischen Angelegenheiten, die meine Untersuchungen wesentlich gefördert haben.

B. Cytologische und vergleichend-physiologische Untersuchungen über *P. multimicronucleatum* und *P. caudatum*.

I. Der Aufbau des Kernapparats in den Exconjuganten von *P. multimicronucleatum*.

a) LANDIS (1925) hat als *P. multimicronucleatum* alle die bisher als Abarten von *P. caudatum* gedeuteten Paramäcien zusammengefaßt, die sich von *P. caudatum* physiologisch durch den Besitz überzähliger kontraktiler Vakuolen (C. V.), cytologisch durch Anwesenheit mehrerer auch nach Größe und Bau von den Micronuclei von *P. caudatum* abweichender Micronuclei auszeichnen. Paramäcien, die in der Form *P. caudatum* sehr gleichen, aber die Fähigkeit besitzen, während des vegetativen Lebens drei oder mehr C. V. zu bilden, sind von HANCE (1917), THAPAR (1923) und BHATIA (1923) vor LANDIS beschrieben worden. Die Angaben und Ansichten der Forscher stimmen darin überein, daß sie das Auftreten überzähliger C. V. als von Außenbedingungen abhängig, die Fähigkeit aber, unter gewissen Bedingungen diese überzähligen C. V. zu bilden, als für diese Art eigentümlich, als erblich ansehen. Zwar können nach WENRICH (1928) auch bei *P. caudatum* drei C. V. auftreten; dieses ist aber selten und meist auf die Zeit kurz vor der Teilung beschränkt. Im einzelnen haben HANCE und THAPAR festgestellt, daß bei *P. multimicronucleatum* die Zahl der C. V. mit dem Alter der Kulturlösung wächst, BHATIA, daß die Zahl der in einer Kultur auftretenden Tiere mit zwei C. V. der Teilungsrate proportional ist. Die Angaben decken sich insofern, als wie THAPAR richtig angibt, in alten Kulturen die Tiere gut ernährt sind, aber fast keine Teilungen stattfinden. Demnach überwiegen also in jungen Kulturen mit hoher Teilungsrate die

Tiere mit zwei C. V., während in alten mit geringer Teilungsrate solche mit überzähligen C. V. vorzugsweise zu finden sind. Cytologische Angaben liegen in den Arbeiten der drei genannten Autoren nicht vor, lediglich HANCE bemerkt, daß es ihm nicht möglich gewesen sei, den für *P. caudatum* typischen Micronucleus zu finden. Die ersten cytologischen Angaben über die fragliche Art stammen von POWERS und MITCHELL. Sie haben *P. caudatum*-ähnliche Tiere mit 2—7, etwa 1 μ großen, bläschenförmigen Micronuclei vom *Aurelia*-Typ beschrieben. Von überzähligen C. V. ist nicht die Rede, in 12,4 Proz. der untersuchten Tiere konnten sie keine Micronuclei finden. Dann stellte LANDIS (1920) fest, daß bei diesen Tieren, die sich von *P. caudatum* in geringem Maße durch ihre Größe unterschieden, überhaupt keine Micronuclei vorhanden waren, eine Angabe, die er 1925 widerrufen mußte, da er feststellte, daß die Tiere durch eine konstante Zahl von vier Micronuclei ausgezeichnet waren, die er infolge ihrer geringen Größe bisher übersehen hatte. Die cytologischen Angaben von POWERS und MITCHELL und LANDIS weichen in Folgendem voneinander ab: POWERS und MITCHELL geben die Zahl der Micro. als 2—7 an, ihre Anordnung als eine unregelmäßige in der Nähe des Macronucleus (Macro.); LANDIS gibt als konstante Zahl vier an, dabei liegen diese „reihenförmig an einer Seite des Macro.“, treten mehr als vier Micro. auf, so findet er diese in solchen Tieren, die kurz vor der Teilung stehen. Er glaubt daher, daß sich einige der vier konstanten Micro. schon durch Teilung auf die Zweiteilung des Tieres vorbereitet haben. Bei den im hiesigen Institut zur Untersuchung gelangten Tieren wurden ebenfalls häufig mehr als vier Micro. gefunden; der Einwand, daß es sich auch hier um zur Teilung bereite Tiere handelt, konnte dadurch entkräftigt werden, daß gezeigt wurde, daß bei Teilungspartnern vor der Trennung nach der Teilung der Micro. die Zahl von acht überschritten wurde, häufig waren zehn Micro. einwandfrei nachzuweisen. Damit war bewiesen, daß die Zahl der Micro. bei unseren Tieren nicht konstant ist. Es entstand daher die Frage, ob uns vielleicht verschiedene Rassen vorlagen, deren jede durch eine konstante Anzahl von Micro., also etwa 2—7, charakterisiert war, oder ob die Inkonstanz der Micro. im Rahmen der normalen Variationsbreite der Art *P. multimicronucleatum* lag, wie dies POWERS und MITCHELL angeben. Der direkten Entscheidung der Frage mittels Isolation und Aufzucht reiner Linien stellten sich erhebliche Schwierigkeiten in den Weg. Erstens konnte bei der Kleinheit der Gebilde und der Gefahr, einige von ihnen zu übersehen, ein zuwenig an Micro. nicht

als Beweis gelten. Dadurch wurden Untersuchungen an reinen Linien mit möglicherweise weniger als vier Micro. schon hinfällig, nur bei Rassen mit mehr als vier Micro. konnte der Nachweis von fünf oder sechs in der reinen Linie als Beweis für eine Rassenzugehörigkeit gelten. Hier tritt aber eine neue Schwierigkeit hinzu, die darin besteht, daß bei der Zweiteilung eine ungleichmäßige Verteilung der Micro. vorkommen kann, so daß z. B. aus einem Tier mit vier Micro. Tochtertiere mit drei und fünf hervorgehen können. Man wird also aus einer Inkonstanz der Micro. innerhalb einer reinen Linie noch nicht auf eine Nicht-Rassenzugehörigkeit schließen dürfen, hingegen nur aus einer völligen Konstanz während einer großen Zahl von Generationen auf die Zugehörigkeit zu derselben Rasse. Dieser Fall ist aber, wie die Endomixisversuche an reinen Linien von STRANGHOENER (1932) gezeigt haben, kaum zu erwarten. Es wurde daher zur positiven Entscheidung der Frage der Aufbau des Kernapparats nach der Conjugation, also die Verhältnisse bei Exconjuganten untersucht, da zu erwarten war, daß sich an dieser Stelle des Lebenscyclus der Tiere Konstanz oder Variation der Zahl der jungen Kerne am ehesten und am auffälligsten äußern mußte. Dabei boten Exconjuganten noch den Vorzug, daß die Entwicklung und Zahl der Macronucleusanlagen, die ebenso wie die Micro. aus einem einzigen Syncaryon hervorgehen und wegen ihrer Größe zu Mißdeutungen keinen Anlaß geben, zur Untersuchung vergleichend herangezogen werden konnten. Es zeigte sich, daß ohne Berücksichtigung dieser Anlagen eine Analyse der Kernverhältnisse überhaupt nicht einwandfrei möglich ist. Aus diesem Grunde zeigten auch Versuche, die Frage der Konstanz an Conjugationspärchen zu entscheiden, keine brauchbaren Resultate.

Die Untersuchungen wurden ausgeführt an einem Material, das durch Reinkultur aus einem einzigen Tier entstanden war. Im Dezember 1930 wurde aus einer Massenkultur ein Tier isoliert und in einer vorher sterilisierten Heulösung weitergezüchtet. Nach 4 Wochen war durch fortwährende Teilung eine kleine Kultur A entstanden, die am 11. Februar 1931 in zwei neue Kulturen 51 und 52 geteilt wurde. Aus 52 wurde durch Isolation wieder eine neue Reinkultur 72 und drei Massenkulturen 78, 79, 80 abgezweigt. Die untersuchten Exconjuganten entstammen den Kulturen 72, 78, 80. Es wurde auf diese Weise an reinen Linien gearbeitet. Zeigt es sich also, daß die Zahl der Micro. und Anlagen in den Exconjuganten nicht konstant ist, so darf man daraus schließen, daß es sich um eine nicht erbliche Variabilität handelt. Außerdem standen mir

noch von Herrn KÖSTER für seine eigenen Untersuchungen angefertigte Präparate zur Verfügung, die ebenfalls aus reinen Linien gewonnen waren und bei denen das Alter zur Zeit der Fixierung angegeben war. Auf diese Weise war es mir möglich, eine Altersbestimmung meiner durch Massenfixierung erhaltenen Exconjuganten vorzunehmen. Um einer Beeinträchtigung der Resultate durch Unregelmäßigkeiten bei der Teilung zu entgehen, habe ich nur Exconjuganten, die ganz sicher vor der ersten Teilung fixiert waren, zu den Untersuchungen benutzt. Es wurden zu diesem Zwecke Conjugationspärchen isoliert, und die Exconjuganten 15—45 Stunden, nachdem die ersten Pärchen sich aufgelöst hatten, fixiert (die Zeit bis zur ersten Teilung dauert nach Köster mindestens 72 Stunden). Fixiert wurde mit Sublimat-Eisessig, Sublimat-Alkohol (warm), Kaliumbichromat-Eisessig und BOVIN'scher Flüssigkeit. Die Anwendung mehrerer Fixierungsmittel erwies sich als notwendig, nachdem sich herausgestellt hatte, daß bei Conjugationsstadien der Einfluß des Fixierungsmittels auf die cytologische Struktur nicht unerheblich ist. Gefärbt wurde aus demselben Grunde mit Boraxkarmin, saurem Alaunkarmin, Alizarincyanin, Salzsäurekarmin. Schnitte ($6\ \mu$), wurden mit Eisenhämatoxylin (HEIDENHAIN) gefärbt.

Die folgende Textfig. 1 gibt das von LANDIS für den Conjugationsverlauf von *P. multimicronucleatum* angegebene Schema, soweit es hier von Wichtigkeit ist, wieder. Als erstes Stadium sogleich nach der Trennung der Exconjuganten habe ich ebenso wie LANDIS das mit vier Micro., entstanden durch zweimalige Teilung des Syncaryons, gefunden. Meist aber zeigten die frühesten Stadien schon einen weiteren Teilungsschritt von vier zu acht Micro. Nach LANDIS gehen von diesen acht Micro. sieben zugrunde (Stadium K), während sich der übrigbleibende zweimal teilt, sodaß wieder ein Stadium mit vier Micro. entsteht. Die Teilung des einen Micro. hat LANDIS nicht beobachten können. Das Stadium mit vier Micro. habe ich ebenfalls gefunden. In der großen Mehrzahl der Fälle aber betrug die Zahl der Micro. in diesem Stadium mehr als acht, bis zu 32 als Höchstzahl. Unter diesen muß ich jeweils die Mehrzahl als „degenerierend“ im Sinne von LANDIS ansehen. Textfig. 2 zeigt einen solchen Exconjuganten mit 32 Micro., von denen sechs schon zu Anlagen des Macro. differenziert sind. Die jungen Anlagen unterscheiden sich von den Micro. weniger durch ihre Größe als durch die lockere Anordnung des Chromatins. Die Micro. zeigen, was in der Abbildung wegen der verschiedenen Tiefe, in der sie liegen, schlecht zum Ausdruck kommt, eine Anordnung in acht Gruppen zu

je vier. Gruppe 1 zeigt zwei junge Anlagen und zwei normale Micro., Gruppe 2 eine Placente und drei Micro., Gruppe 3 vier Micro., von denen zwei schon das Aussehen von degenerierenden Kernen zeigen, Gruppe 4 ebenfalls vier Micro., Gruppe 5 zwei Placenten, zwei Micro., wovon einer degenerieren wird, Gruppe 6 vier Micro., Gruppe 7 eine Placente und drei Micro., Gruppe 8 vier Micro.

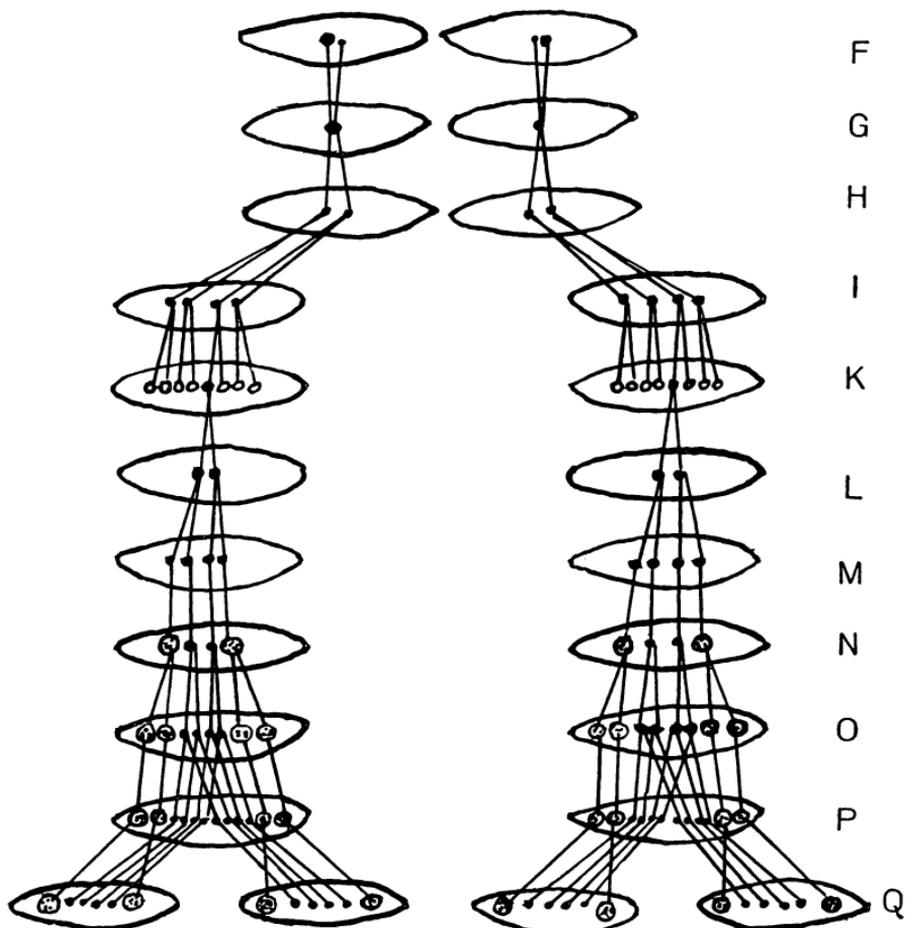


Fig. 1. Entwicklung des Kernapparates in den Exconjuganten von *P. multimicronucleatum*. (Nach LANDIS.)

Die Zahl der definitiven Micro. läßt sich in diesem Stadium noch nicht mit Sicherheit angeben. Man darf wohl vermuten, daß die acht Vierergruppen durch zweimalige Teilung jedes der acht Micro., die auch LANDIS angibt, entstanden sind. Besonders zu beachten ist, daß die einzelnen Vierergruppen Kerne ungleicher prospektiver Bedeutung enthalten, es können aus einer solchen Gruppe sowohl zwei Placenten und zwei Micro., als auch vier Micro. hervorgehen, und

da, wie wir nachher sehen werden, die Mehrzahl der Micro. degeneriert, muß man aller Wahrscheinlichkeit nach noch als dritten Fall den annehmen, daß eine Vierergruppe überhaupt keinen Beitrag zum definitiven Kernapparat liefert. Man wird hiernach auf einem Stadium, auf dem definitive Micro. und Placenten schon vollständig differenziert sind, die Höchstzahl der Micro. mit 32 minus Zahl der Anlagen angeben dürfen. Die bei den von LANDIS untersuchten Tieren

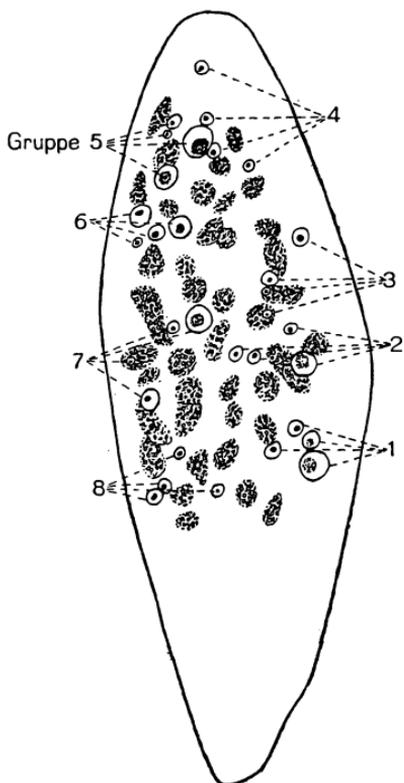


Fig. 2. *P. multi*. Junger Exconjugant. Vergr. 1:400.

einen Exconjuganten vor der ersten Teilung mit zwei, schon ziemlich großen Placenten, drei größeren typischen und fünf weiteren, wohl degenerierenden Micro. Textfig. 4 stellt ein ähnliches Stadium mit drei Placenten und vier typischen Micro. dar, von denen einer in Teilung begriffen ist; außerdem ist noch ein weiterer (a) kleiner Micro. vorhanden, der in der Form denen von LANDIS unter Nr. 54—60 abgebildeten zugeordnet werden kann und als degenerierend angesehen werden muß. Textfig. 5 gibt einen Exconjuganten wieder, der in der Placentenzahl den von LANDIS angegebenen „Normalfall“ darstellt. Jedoch fand ich 28 Micro., von denen

vorliegenden Verhältnisse können sich als Spezialfall hiervon ergeben, wenn, wie LANDIS auch angibt, auf dem Stadium K von acht Kernen sieben degenerieren und nur einer die Fähigkeit zur weiteren Entwicklung in sich trägt, d. h. eine Vierergruppe bildet, aus der dann in jedem Falle zwei Micro. und zwei Placenten hervorgehen. Über die Zahl der definitiven Placenten sagt dieses Präparat nur aus, daß aus einer Vierergruppe nicht mehr als zwei Placenten hervorgehen. Das würde also eine Höchstzahl von 16 Placenten ergeben; wir werden sehen, daß die Verhältnisse bei den Exconjuganten dieser Ansicht nicht widersprechen.

Es sollen jetzt zunächst die verschiedenen Typen von Exconjuganten besprochen werden, die Anordnung ist nach der Zahl der Anlagen, als dem sichersten Merkmal, vorgenommen worden. Textfig. 3 zeigt

ich neun als normal und typisch ansehen muß. Es liegt natürlich die Möglichkeit vor, daß von diesen auf einem späteren Stadium noch vier oder fünf degenerieren und damit auch hinsichtlich der Micro.-Zahl die LANDIS'schen Verhältnisse vorliegen, es steht aber auch nichts im Wege, besonders, da ich bei einer größeren Anzahl von Exconjuganten mit vier Placenten mehr als vier Micro. gefunden habe, anzunehmen, daß auch in diesem Falle, nicht wie LANDIS angibt, auf dem Studium K nur ein Kern erhalten bleibt, der alles Weitere liefert, sondern daß sich mehrere, hier sogar alle, weiter ent-



Fig. 3. *P. multi*. Exconjugant, zwei Anlagen, drei Micro., fünf degenerierte Micro.

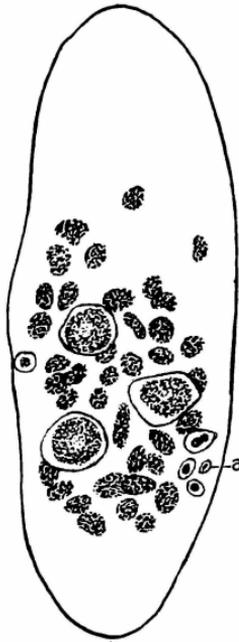


Fig. 4. *P. multi*. Exconjugant, drei Anlagen, vier Micro., ein degenerierter Micro.



Fig. 5. *P. multi*. Exconjugant, vier Anlagen, neun Micro., 19 degenerierte Micro.

wickeln, aus verschiedenen Vierergruppen im ganzen vier Placenten entstehen, und daß die Höchstzahl der Micro. nur der Bedingung $32-4 = 28$ unterworfen ist. Von diesen können dann wieder viele degenerieren. Der Anwendung des LANDIS'schen Schemas auf unsere Exconjuganten mit vier Placenten macht auch noch die Tatsache Schwierigkeiten, daß wir eine Teilung der Placenten vor der ersten Teilung, wie sie LANDIS beschreibt, in keinem Falle gefunden haben. Dasselbe ist von STRANGHÖNER für den Aufbau des Kernapparates im endomiktischen Prozeß festgestellt worden. Da LANDIS auch selbst

(p. 134) sagt: „The actual division of the anlagen has not been found, but it seems to occur between eight to ten hours after separation“ scheint mir die Richtigkeit seiner Angabe in Frage gestellt zu sein. In Textfig. 6 ist ein Exconjugant mit fünf Placenten und neun Micro., die sich voneinander kaum unterscheiden, wiedergegeben, zwei Micro. liegen auf bzw. unter den Placenten. Textfig. 7 zeigt ein Stadium mit sechs Placenten und sechs Micro., Textfig. 8 ein solches mit

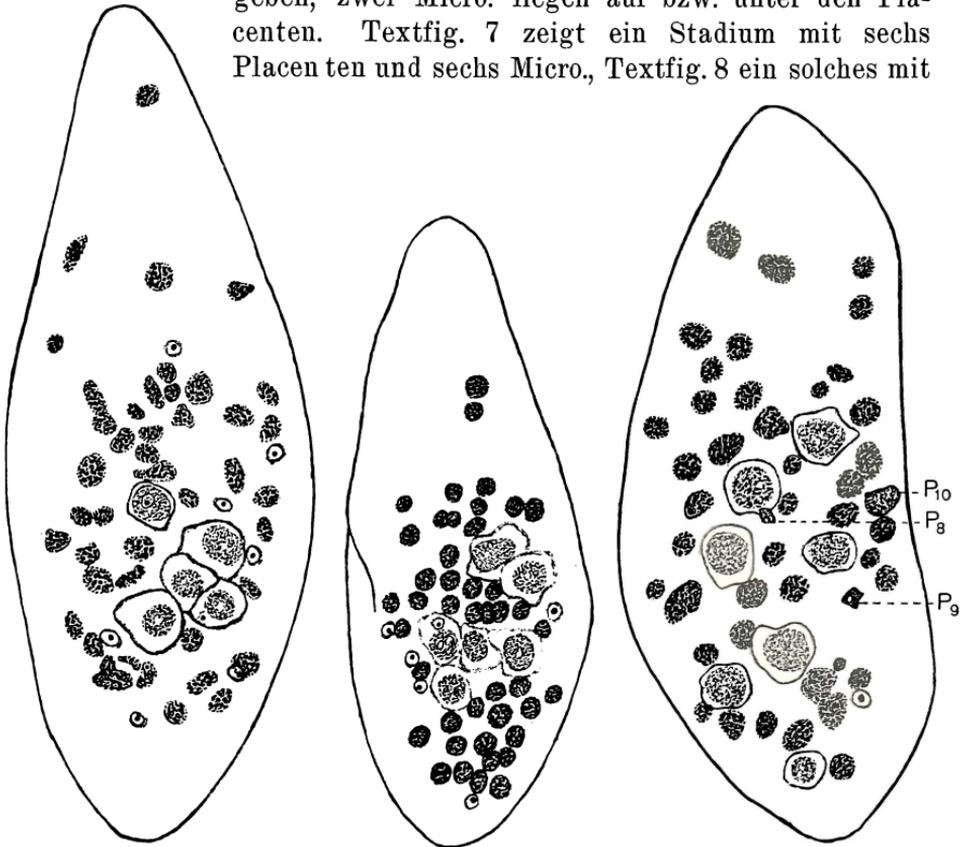


Fig. 6. *P. multi*. Exconjugant, fünf Anlagen, neun Micro.

Fig. 7. *P. multi*. Exconjugant, sechs Anlagen, sechs Micro.

Fig. 8. *P. multi*. Exconjugant, sieben Anlagen, ein Micro., drei degenerierte Anlagen.
P = Placenten.

sieben normalen Placenten, von denen eine etwas kleiner als die übrigen ist, und nur einen Micro. Außerdem zeigt dieses Präparat drei weitere Gebilde, die ich als degenerierende Placenten ansehen muß. P₁₀ ähnelt einer normalen Placente, nur fehlt der charakteristische Hof einer solchen, P₉ zeigt trotz ihrer geringen Größe die den meisten normalen Placenten eigene Vakuole im Innern, P₈ ist sehr blaß gefärbt, zeigt aber deutlich noch die lockere Struktur des Pla-

centenchromatins. Eine Verwechslung aller drei Gebilde mit Zerfallsbrocken des alten Macro. scheint mir ausgeschlossen, erstens ist die Färbung von der der Macro.-Brocken sehr verschieden, zweitens sind diese Gebilde scharf umrandet, während die Macro.-Brocken diese Umrandung nicht zeigen, drittens ist die typische Vakuole,

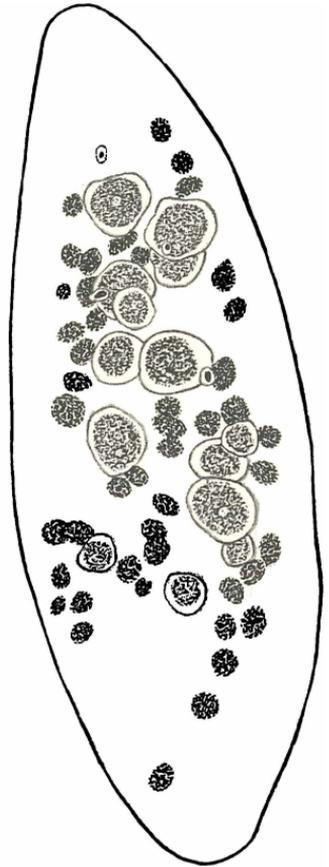
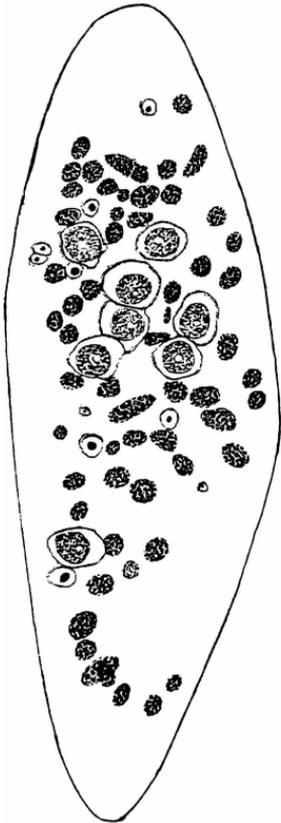


Fig. 9. *P. multi*. Exconjugant, acht Anlagen, acht Micro., zwei degenerierte Micro.

Fig. 10. *P. multi*. Exconjugant, zwölf Anlagen, sechs Micro., zwei degenerierte Micro.

Fig. 11. *P. multi*. Exconjugant, 14 Anlagen, vier Micro.

wie sie sich in Placenten findet, bei Macro.-Brocken nicht zu finden. Es dürfte sich hier vielmehr um den seltenen Fall handeln, daß bereits differenzierte Placenten wieder zugrunde gehen. Ich habe in anderen Präparaten ähnliche Gebilde wie diese gefunden. Sie stehen diesen jedoch an Eindeutigkeit nach. Textfig. 9 stellt ein noch ziemlich junges Stadium mit acht Placenten und acht Micro. dar,

von denen vier größer als die übrigen sind. Außerdem sind zwei kleine degenerierende Micro. vorhanden. Textfig. 10 gibt einen Exconjuganten mit zwölf noch jungen Placenten, sechs typischen und zwei degenerierenden Micro. wieder, während Textfig. 11 ein altes Stadium mit 14 Placenten, von denen sich sieben durch besondere Größe auszeichnen, und vier typischen Micro. darstellt.

In Tab. 1 sind die Zahlen zusammengestellt, die bei der Untersuchung von 200 Exconjuganten vor der ersten Teilung gefunden wurden. In der ersten Spalte ist die Zahl der vorgefundenen Placenten, in der ersten Zeile die der Micro. eingetragen. Darunter ist jeweils die Anzahl von Tieren angegeben, die die betreffende Zahl von Micro. und Placenten besitzen. In der letzten Spalte und letzten Zeile sind die Summen der Anzahl von Tieren mit den verschiedenen Zahlen von Micro. und Placenten vermerkt.

Tabelle 1.

Zahl der Placenten	Zahl der Micro.													Sa.
	0	1	2	3	4	5	6	8	9	10	12	>12	?	
2	4	1	5	2	2	—	1	—	—	—	—	—	—	15
3	1	2	—	1	1	—	—	—	—	—	—	—	—	5
4	24	10	16	12	50	2	1	4	1	—	—	—	3	123
5	3	3	1	1	1	2	—	1	—	1	1	—	—	14
6	6	3	1	1	4	—	3	—	—	—	—	2	1	21
7	1	2	1	—	1	—	—	1	1	1	—	1	1	10
8	1	—	—	—	3	—	—	1	—	—	—	—	—	5
10	—	—	—	—	—	—	1	1	—	—	—	—	—	2
11	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1
12	—	—	—	—	—	—	1	—	—	—	—	—	—	1
13	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1	—	1
14	1	—	—	—	1	—	—	—	—	—	—	—	—	2
Sa.	42	21	24	17	63	4	7	8	2	2	1	4	5	200

Aus der Tabelle geht hervor, daß die Zahl der Placenten von 2—14 schwankt, 61,5 Proz. aller Exconjuganten haben vier Placenten, 10,5 Proz. sechs, dann folgen zwei und fünf mit 7 bzw. 7,5 Proz. Die anderen Zahlen kommen nur selten vor. Bei 21 Proz. aller Exconjuganten wurden keine Micro. gefunden; es sind in dieser Zahl ganz sicher viele Tiere einbegriffen, bei denen ein oder mehrere Micro. übersehen worden sind, eine Gefahr, auf die ich oben schon hingewiesen habe. Immerhin sind auch eine Anzahl Tiere darunter, die so klare Bilder zeigen, daß diese Fehlerquelle ausgeschlossen ist. Vier Micro. besitzen nur 31,5 Proz., mehr als vier Micro. 14 Proz., ein bis drei Micro. 31 Proz.

Die Verteilung der Micro. und Placenten läßt sich in Häufigkeitskurven darstellen, wie dies in Textfig. 12 geschehen ist. Die Maxima liegen in beiden Fällen bei vier Placenten und vier Micro., die Werte hierfür sind höher als die bei typischen Variationskurven zu erwartenden. Die Kurve für die Micro. ist mit den angegebenen Fehlern behaftet.

Die Tabelle und die Kurven zeigen also, daß die Tiere in der Zahl der Micro. und Placenten der Exconjuganten stark variieren, $\frac{3}{5}$ aller Exconjuganten besitzen vier Placenten und 40 Proz. von diesen vier Micro., stellen also den von LANDIS angegebenen Typus dar, $\frac{2}{5}$ dagegen variieren in der Placentenzahl und 68,5 Proz. der Gesamtzahl in der Zahl der Micro. Eine Beziehung zwischen der Zahl der Micro. und der Placenten läßt sich nur insofern aufstellen, als die Maxima in der Anzahl derselben beide bei vier liegen. Bezüglich der Entstehung dieser Kernverhältnisse sei auf das Obengesagte verwiesen; ich sehe keine andere Erklärungsmög-

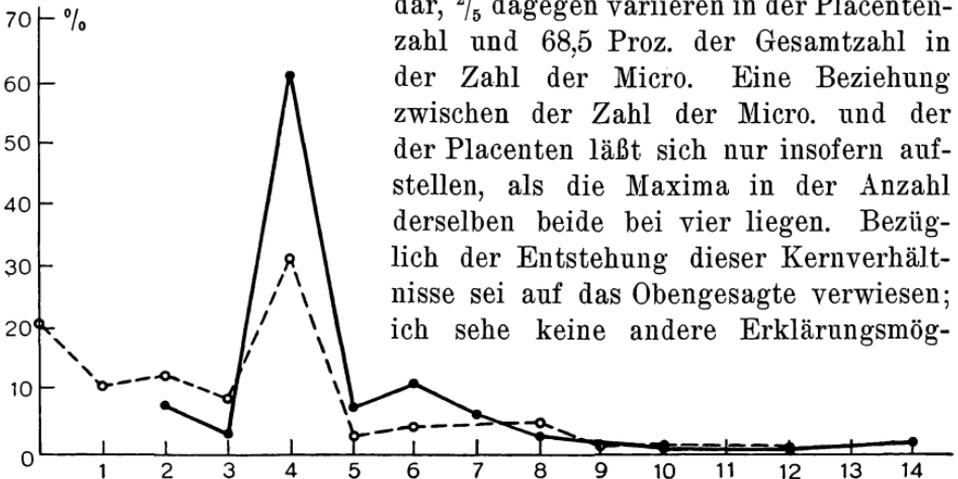


Fig. 12. Variabilitätskurven für die Zahl der Micro. und Anlagen in den Exconjuganten von *P. multi*. - - - - - Zahl der Micro., ———— Zahl der Anlagen.

lichkeit für diese komplizierten Kernverhältnisse als die dort auf Grund der Textfig. 1 versuchte Deutung. Insbesondere sehe ich keine Möglichkeit, auf Grund des LANDIS'schen Schemas zu einer befriedigenden Erklärung zu gelangen. Aus den an reinen Linien gewonnenen Präparaten geht noch hervor, daß die beiden Abkömmlinge eines Conjugationspärchens in bezug auf die Zahl der Micro. und Placenten nicht gleich zu sein brauchen. Es kommen neben der in der Mehrzahl aller Fälle auftretenden Kombination der Placenten 4 : 4 auch die Kombinationen 4 : 6, 4 : 7, 5 : 6 vor. Auch hieraus geht hervor, daß die Abkömmlinge des Syncaryons hinsichtlich ihrer prospektiven Bedeutung keineswegs determiniert sind.

Es sollen jetzt noch an einem beschränkten Material die Verhältnisse an Exconjuganten, die sich bereits einmal geteilt haben, besprochen werden. Nach LANDIS werden die Placenten hierbei gleichmäßig auf beide Nachkommen verteilt, man darf also erwarten,

daß die Zahl der Placenten zwischen eins und sieben schwankt. Dies ist im Prinzip auch der Fall; dazu kommt aber, daß auch bei einer geraden Anzahl von Placenten eine ungleiche Verteilung derselben bei der Teilung des Tieres möglich ist. In Textfig. 13 u. 14 sind zwei Geschwister, Exconjuganten nach der ersten Teilung, dargestellt, von denen eines eine Placente, das andere drei solche enthält. Es sind also in diesem Falle die vier Placenten ungleich verteilt worden, die Zahl der Micro. ist bei beiden vier. Tiere mit nur einer Placente habe ich sonst unter den Exconjuganten nach der

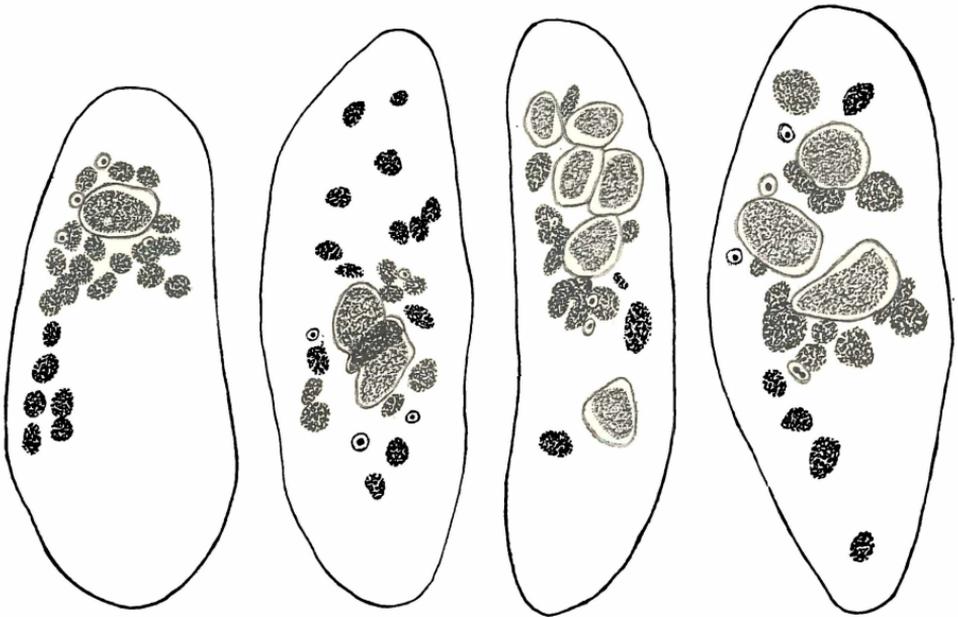


Fig. 13. *P. multi*.
Exconjugant
nach der ersten
Teilung. Eine
Anlage, vier
Micro.

Fig. 14. *P. multi*.
Exconjugant
nach der ersten
Teilung. Drei
Anlagen, vier
Micro.

Fig. 15. *P. multi*.
Exconjugant
nach der ersten
Teilung. Sechs
Anlagen, drei
Micro.

Fig. 16. *P. multi*.
Exconjugant
nach der ersten
Teilung. Drei
Anlagen, vier
Micro.

ersten Teilung nicht gefunden. Textfig. 15 stellt einen Exconjuganten desselben Stadiums mit sechs Placenten, der größten vorkommenden Zahl, und drei Micro. dar, einer davon ist nicht typisch.

Aus der Tatsache, daß bei der ersten Teilung der Exconjuganten eine ungleiche Teilung der Placenten vorkommen kann, wird man ein ähnliches Verhalten auch von den Micro. erwarten dürfen. Ein entsprechender Fall liegt uns für einen Exconjuganten nach der vierten Teilung vor. Aus diesem Grunde glaube ich, kann aus den

Kernbildern solcher Tiere nur mit großem Vorbehalt ein Schluß gezogen werden. Es sei deshalb nur mitgeteilt, daß der Besitz von zwei Placenten und vier Micro. weitaus am häufigsten ist, und daß drei Placenten mit ein, zwei, drei und vier Micro. zusammen vorkommen. Textfig. 16 stellt einen solchen Exconjuganten mit drei Placenten und vier Micro. dar, der zugehörige Partner besitzt drei Placenten und zwei Micro., so daß die Ausgangsform wahrscheinlich sechs Placenten und sechs Micro. gehabt haben dürfte. In diesem Falle müßte man annehmen, daß die Teilung der Micro., die normalerweise der Zellteilung vorausgeht, unterblieben ist.

Es erhebt sich jetzt die Frage, wodurch die Unterschiede in den Kernverhältnissen der von LANDIS untersuchten und diesen Tieren bedingt sein kann. Zunächst wird man daran denken müssen, daß Außenfaktoren, Ernährung, Temperatur usw. eine Rolle spielen können, eine Vermutung, die mir auf Grund meiner Präparate sehr wahrscheinlich ist.

Tabelle 2.

Zahl der Placenten 1	Anzahl der Tiere in Proz. 2	Verteilung auf die einzelnen Zuchten				
		Kultur K 3	Kultur 80 4	Kultur 72 5	Kultur 78 6	Kultur 80 7
2	7,5	1	0,5	1	2	3
3	2,5	—	0,5	1,5	0,5	—
4	61,5	12,5	7	7	23	12
5	7	0,5	2,5	1,5	1	1,5
6	10,5	3	1	1,5	3	2
7	5	1	2,5	1	—	0,5
8	2,5	—	1	0,5	0,5	0,5
10	1	—	—	—	0,5	0,5
11—14	2,5	—	1,5	1	—	—
Sa.	100	18	16,5	15	30,5	20
4 Placent.:	61,5 %	69,5 %	42,4 %	46,6 %	75,4 %	60 %

In Tab. 2 sind noch einmal für die Zahl der Placenten die Prozentwerte eingetragen, dabei ist in den Spalten 3—7 angegeben, wie sich diese Werte auf die einzelnen Zuchten, aus denen die Exconjuganten gewonnen wurden, verteilen. Die Tabelle zeigt, daß der Prozentsatz der Tiere mit vier Placenten in den verschiedenen Zuchten sehr verschieden groß ist: bei der Kultur K beträgt er 69,5 Proz., in der Kultur 80 einmal 42,4 Proz., bei Tieren, die einige Tage später der Zucht entnommen wurden, 60 Proz., in der Kultur 78

75,4 Proz. und in der Kultur 72 46,6 Proz. Es scheint mir ausgeschlossen, daß diese Unterschiede rein zufällig zustande kommen, ich glaube vielmehr, daß sich hierin der Einfluß von Außenfaktoren geltend macht, in erster Linie der Reichtum an Nahrung, der den jungen Exconjuganten während der Zeit nach der Conjugation zur Verfügung steht. Darauf deutet auch der Größenunterschied, der unter Textfig. 2—11 dargestellten Exconjuganten hin. Wie man bei einem Vergleich dieser Abbildungen sieht, wächst die Körpergröße dieser Tiere im großen Ganzen mit der Zahl der gebildeten Placenten. Es wäre möglich, daß die Zahl der Placenten direkt von der Menge der zu ihrem Aufbau vorhandenen Nahrung abhinge. Doch kann eine solche Parallelität nur durch neue Versuche ermittelt werden, die es gestatten, die Außenbedingungen zu variieren.

Zusammenfassend wird man also sagen können, daß die von LANDIS untersuchten Tiere unseren gegenüber eine ganz geringe Variationsbreite des Kernapparats aufweisen, während die von POWERS u. MITCHELL untersuchten sich darin ähnlich wie die unserigen verhalten haben dürften. Aber auch LANDIS hat die Möglichkeit einer Variation der Kernverhältnisse in den Exconjuganten erwogen. „There is always the possibility or probability of a certain degree of individual variation“, er diskutiert sogar den Fall, daß auf dem Stadium K weniger als sieben Micro. degeneriert sein könnten (S. 133): „the four functional micronuclei . . . might have arisen merely by the degeneration of four of the eight micronuclei produced by the third division of the syncarion“, jedoch lehnt er diese Annahme im nächsten Satz wieder ab und führt dementsprechend auch kein einziges Beispiel für eine solche Variation an.

Die eingangs gestellte Frage, ob eine Variation der Kernverhältnisse oder verschiedene Rassen bei den untersuchten Tieren vorliegen, muß daher auf Grund dieser Untersuchungen zugunsten der ersten Annahme entschieden werden. Der Kernapparat von *P. multimicronucleatum*, wie er in den Exconjuganten aufgebaut wird, weist eine außerordentliche Plastizität auf. Dabei spielt die Entstehungsweise von Mikro. und Placenten für den definitiven Kernapparat keine Rolle. Bei der Teilung werden die Placenten gleichmäßig oder ungleichmäßig auf die Abkömmlinge verteilt; die ursprünglich vor der ersten Teilung vorhandene Zahl von Micro. wird so abgeändert, daß im normalen Tier bis zu sieben auftreten können. Der hierbei waltende Mechanismus — Unterbleiben von Kernteilungen und ungleiche Verteilung der Kerne —, ließ sich im einzelnen nicht feststellen.

Ähnliche Verhältnisse wie die hier geschilderten hat DOGIEL für *Paraisotricha* beschrieben. Er faßt seine Ergebnisse in dem Satz zusammen: „Die Anzahl und die Beschaffenheit der den Macro. bildenden Placenten hat bei der Wiederherstellung des Kernapparats keine entscheidende Bedeutung.“

b) Es ist klar, daß die Kenntnis der Variationsbreite einer Art Vorbedingung für eine Analyse der bei einer möglichen Bastardierung auftretenden Formen ist. Es soll daher hier noch kurz auf die Variationsbreite von *P. caudatum* eingegangen werden.

Bei *P. caudatum* entstehen durch dreimalige Teilung des Syncaryons acht Kerne, von denen vier zu Placenten werden; von den vier übrigen degenerieren nach MAUPAS drei und einer liefert durch zweimalige Teilung vier Micro., so daß vor der ersten Teilung ein Stadium mit vier Placenten, vier Micro. entsteht. Nach CALKINS und CULL entwickeln sich von den ursprünglichen Kernen alle weiter, so daß dasselbe Stadium entsteht. KLITZKE (1914) hat die Angabe von MAUPAS bestätigt, daß die vier definitiven Micro. aus einem der ursprünglich vorhandenen hervorgehen; er hat dann weiter festgestellt, daß die drei anderen sich ebenfalls weiter entwickeln, einer davon sich sogar teilen und mehrere Teilungen des Exconjuganten mitmachen kann. Es liegt hier ein interessanter Parallelfall zu den bei *P. multimicronucleatum* beschriebenen Verhältnissen vor. KLITZKE bezeichnet einen solchen bei *P. caudatum* anormalen Fall als eine „Art Atavismus“. „Ursprünglich entwickeln sich bei den Ciliaten alle Micro.-Anlagen zu Micro. (*P. aurelia*, *P. bursaria*), als sekundäre Erwerbung ist es aufzufassen, wenn einige der Micro.-Anlagen resorbiert werden, wie bei *P. caudatum*, *P. putrinum*.“ Nach dieser Auffassung wäre *P. multimicronucleatum* als eine Form, bei der sich alle Anlagen zunächst entwickeln, dann aber in wechselnder, nicht konstanter Zahl zugrunde gehen, zwischen beide Gruppen zu stellen.

Als Abweichungen von der normalen Entwicklung gibt MAUPAS unter hunderten von untersuchten Tieren nur zwei an, die beide einmal vorkamen. Im ersten Falle waren anstatt acht 16 Micro. vorhanden, die alle gleich aussahen. Als Erklärungsmöglichkeiten gibt er an: erstens eine überzählige Syncaryonteilung, zweitens je dreimalige Teilung von nichtverschmolzenen Pronuclei. Die zweite, hier wichtigere Ausnahme stellt ein Exconjugant mit sechs Placenten, einem normalen und einem degenerierenden Kern dar, also $6 + 1 + 1$ deg. anstatt $4 + 1 + 3$ deg. Über dieses Tier sagt er: „L'existence de six nouveaux noyaux chez l'une d'elles me paraît, en effet, démontrer qu'il peut arriver dans certains cas que des corpuscules

nucleaires d'origine postérieur (Micro.) évoluent et se développent dans le même sens que ceux d'origine antérieur (Macro.). Le cas est anormal, mais il n'en prouve pas moins qu'il n'existe pas une différence absolument essentielle entre les corpuscules antérieurs et postérieurs.“ Also auch MAUPAS schreibt den Micro. von *P. caudatum* auf dem Stadium nach der dritten Syncaryonteilung keine feste Differenzierung zu. Einen ähnlichen Fall, fünf Placenten und einen Micro., hat KLITZKE bei seinen Wiederconjuganten in mehrfacher Zahl gefunden; ein anderer, vier Placenten und zwei Micro., dürfte vielleicht auf Grund der von ihm für die von CALKINS und CULL beschriebenen Formen herangezogenen Deutung seine Erklärung finden. Auch KLITZKE weist in diesem Zusammenhang auf die prinzipielle Gleichwertigkeit von Micro.- und Macro.-Anlagen hin. Alle Autoren geben übereinstimmend an, daß Abweichungen vom normalen Kernbild nur bei Tieren auftreten, die am Ende einer Conjugationsperiode conjugierten.

Ich selbst habe an dem mir von *P. caudatum* zur Verfügung stehenden Material keine solchen Abweichungen finden können. Im Gegensatz zu *P. multimicronucleatum* ist also unter denselben Zuchtbedingungen die Variationsbreite des Kernapparats in den frühen Exconjuganten von *P. caudatum* gleich Null.

II. Physiologische Unterschiede zwischen *P. multimicronucleatum* und *P. caudatum*.

a) Nachweis der Unterschiede mit Hilfe der Methode der Vitalfärbung.

Es sollen zunächst die physiologischen Unterschiede mit Hilfe der Vitalfärbung nachgewiesen werden, d. h. es soll untersucht werden, wie beide Arten unter vorgeschriebenen äußeren Bedingungen sich Vitalfarbstoffen gegenüber verhalten, und ob und wie sich die Färbungsbilder voneinander unterscheiden. Zu diesem Zwecke muß auf das Problem und die Methoden der Vitalfärbung selbst kurz eingegangen werden. Im Anschluß daran soll der Vorgang der Vitalfärbung bei den Versuchstieren beschrieben, neue Beobachtungen mitgeteilt und ältere Untersuchungen kritisch betrachtet werden. Auf dieser Basis wird es möglich sein, Unterschiede in der Färbung beider Arten festzustellen. Im zweiten Abschnitt sollen die Versuche über den Einfluß von Giften und hohen Temperaturen auf beide Arten mitgeteilt, sowie ein Vergleich zwischen Giftwirkung und Vitalfärbung gezogen werden.

1. Theorien der Vitalfärbung.

Bei der Färbung lebender Zellen mit Vitalfarbstoffen hat man zwei Prozesse zu unterscheiden: erstens den Vorgang des Eindringens des Farbstoffes in die Zelle (Permeabilitätsproblem), zweitens den Vorgang der Speicherung des Farbstoffes in der Zelle selbst (Speicherungsproblem). Die Lösung des Permeabilitätsproblems ist von der Grundlage dreier verschiedener Theorien aus versucht worden. Die modifizierte Lipoidtheorie (NIRENSTEIN) macht die Färbefähigkeit eines Farbstoffes von seiner Löslichkeit abhängig; entgegen den NIRENSTEIN'schen Beobachtungen und den Grundlagen der Theorie, die im Prinzip gleiches Verhalten für basische und saure Farbstoffe fordert, haben neuere Untersuchungen (BALL, 1927; KONO, 1930) gezeigt, daß nur basische Farbstoffe vital färben. Die Adsorptionstheorie (TRAUBE und KÖHLER, KREBS und NACHMANNSOHN) sieht einen unspezifischen Oberflächenprozeß als wesentlichen Faktor an, während die Reaktionstheorie (BETHE) in ihrer neueren Form (BENOIST, GOLBLIN, KOPACZEWSKI, 1927) eine elektrostatische Adsorption für die Farbstoffaufnahme verantwortlich macht.

Bei den Speichervorgängen muß man eine granuläre Färbung, bei der der Farbstoff in kleinen, meist kugeligen Gebilden auftritt, von einer diffusen Färbung, bei der die Grundsubstanz des intragranulären Protoplasmas gefärbt wird, unterscheiden. Bei den unter Anwendung saurer Vitalfarben sichtbar werdenden Granula handelt es sich nach VON MOELLENDORFF, SCHULEMANN u. a. um eine einfache Ablagerung des Farbstoffes ohne Bindung chemischer oder physikochemischer Art mit den Zellbestandteilen, bei den nach Einwirkung von basischen Farbstoffen in Erscheinung tretenden Granula jedoch nach VON MOELLENDORFF und HERZFELD um präformierte Zellbestandteile mit Reservestoffcharakter, an die der Farbstoff elektrochemisch gebunden ist. Die Entstehung normaler (ungefärbter) Granula stellt sich VON MOELLENDORFF in derselben Weise vor wie die der sauren Granula, besonders deshalb, weil sich beide zu basischen Farbstoffen ganz gleich verhalten.

Über die Morphologie der Diffusfärbung, die als vital überhaupt erst von NIRENSTEIN und von VON MOELLENDORFF erkannt worden ist, ist nichts weiter bekannt, als daß das Plasma von dem betreffenden Farbstoff gleichmäßig diffus gefärbt wird; bei der Bindung des Farbstoffes hat man an chemische Verankerung an ultramikroskopische Partikel, an Adsorption und an Lösung gedacht.

2. Vitalfärbungsversuche bei Paramäcien.

Unter den Arbeiten über Vitalfärbung bei Paramäcien speziell interessiert uns vor allem die Arbeit von NIRENSTEIN, aus deren Resultaten so zahlreiche und wichtige Schlüsse für die Lipoidtheorie der Vitalfärbung gezogen wurden. Die experimentellen Grundlagen dieser Untersuchungen sind von allen, die sich mit der Vitalfärbungstheorie beschäftigt haben, ungeprüft übernommen worden, obwohl sich in der Literatur verschiedene Hinweise darauf finden, daß Teile dieser Untersuchungen nicht bestätigt worden sind (s. BALL, KONO), oder die Resultate zum wenigsten auch anders gedeutet werden können. Aus diesem Grunde muß auf die NIRENSTEIN'sche Arbeit näher eingegangen werden.

Die von NIRENSTEIN zur Untersuchung verwendeten Paramäcien „waren von zweierlei Art: erstens normale Tiere, d. h. solche, deren vitalfärbbare Granula den für normale Tiere charakteristischen Umfang besaßen, zweitens Paramäcien, deren vital färbbare Endoplasmakörnchen zu ganz enormen Kugeln vergrößert waren“. Er erhielt diese Veränderungen dadurch, daß er geringe Mengen einer dichten Paramäciensuspension in eine flache Schale brachte und diese 4 bis 24 Stunden ruhig stehen ließ. Im Laufe dieser Zeit konnte er beobachten, daß sich der ganze Zellkörper der Paramäcien allmählich mit zunächst kleinen, dann immer größer werdenden Vakuolen anfüllte, die, wenn sie leer, eine klare Flüssigkeit, wenn nicht, stark lichtbrechende, fetttröpfenartige, kugelige Gebilde in Ein- oder Mehrzahl enthielten, die einen Durchmesser bis zu $10\ \mu$ aufwiesen. Die Entstehung dieser großen Gebilde — Vakuolen und fetttröpfenartige Kugeln — aus kleinen Vakuolen und Körnchen von der Größe eines normalen Granulums konnte häufig beobachtet werden. NIRENSTEIN gibt an, daß dieser Vorgang, von ihm als Quellung gedeutet, nach 5—10 Minuten wieder vollständig verschwinden kann, wenn die Vergrößerung von Vakuolen und Körnchen sich in engen Grenzen hält, daß aber auch hochgradig veränderte Tiere (mit großen Kugeln in den Vakuolen) — in welcher Zeit, ist leider nicht angegeben — wieder völlig normal werden können. SPEK (1924) weist darauf hin, daß die beiden von NIRENSTEIN beobachteten Erscheinungen keineswegs immer zusammengehören, daß die Vakuolisierung (Strukturvergrößerung) und das Auftreten der fettähnlichen Tropfen zwei getrennte Vorgänge sind. Die Vakuolisierung ist schon von verschiedenen Autoren beobachtet worden, sie tritt erstens — offenbar immer, wie WALLENGREN (1901) zeigen konnte — bei hungernden

Tieren auf, sie kann aber auch zweitens bei normal ernährten Tieren plötzlich auftreten und ist, wie SPEK nachweisen konnte, experimentell dadurch zu erreichen, daß man bestimmten Salzlösungen, in denen man die Tiere hält, kleine Mengen gewisser Eiweißstoffe zufügt. Das Auftreten der fettartigen Kugeln, die sich mit vielen Vitalfarbstoffen, z. B. Neutralrot, färben, scheint dagegen ein Vorgang zu sein, der nur schwer zu analysieren ist. WALLENGREN fand „größere und kleinere runde Körperchen im Endoplasma“, die sich mit Neutralrot (N. R.) gut färbten in der sog. ersten Hungerperiode, während die Vakuolisierung erst später auftrat. Sie dürften nach der betreffenden Abbildung etwa von der Größenordnung sein, wie die von NIRENSTEIN beschriebenen, die nach sehr kurzer Zeit wieder verschwinden können. SPEK hat ebenfalls mit Nilblausulfat färbare Tröpfchen derselben Größenordnung beobachtet, wendet sich aber mit Entschiedenheit gegen die Auffassung, daß diese größeren Tröpfchen aus normalen Endoplasmakörnchen hervorgegangen sein könnten, nicht zuletzt aus dem Grunde, „weil er in normalen Tieren keine ebenso färbbaren Lipoidtröpfchen findet“. Der Sinn dieses letzten Satzes ist mir nicht klar, Nilblausulfat ist doch ein bekannter Granulafarbstoff, und ich habe selbst gute Färbungen der Granula — und das sind doch wohl die Lipoidtröpfchen — erzielt. Schließlich hat sich BOZLER (1924) noch genauer mit solchen großen, fett-tropfenartigen Gebilden bei *P. caudatum* befaßt. Er beschreibt, daß durch Infektion mit Kernparasiten aus normalen Granula entstehende, bis 20 μ große, fett-tropfenähnliche, runde, mit N. R. stark färbbare, in Vakuolen eingeschlossene Kugeln auftreten, und seine Abbildungen stimmen mit den von NIRENSTEIN gegebenen genau überein. Er nimmt an, daß die Entstehung dieser Gebilde als eine „direkte Wirkung der unter dem Einfluß der Parasiten erfolgten Degeneration des Macronucleus aufzufassen ist“. Nach 5—7 Tagen, von dem ersten Auftreten der Veränderungen an gerechnet, waren die Tiere tot. BOZLER glaubt, daß es sich in beiden Fällen (ebenso wie bei WALLENGREN) um ganz verschiedene Erscheinungen handelt, denen nur die Färbbarkeit durch N. R. gemeinsam ist. Ich selbst habe bei meinen Färbungsversuchen, sowohl bei Hungertieren als auch bei normalen, Vakuolisierung sehr häufig festgestellt, in keinem einzigen Falle aber sind mir, weder nach genauer Nachahmung der NIRENSTEIN'schen Versuche, noch durch Züchten in den verschiedensten Medien, solche fettähnlichen Tropfen von der von NIRENSTEIN und BOZLER angegebenen Größenordnung zu Gesicht gekommen. Wohl traten unter bestimmten Bedingungen — darauf werde ich noch

eingehen — vergrößerte Granula auf, sie sind aber in der Größenordnung überhaupt nicht mit den von NIRENSTEIN und BOZLER beschriebenen zu vergleichen. Ich bin daher geneigt, besonders im Hinblick auf BOZLER'S Untersuchungen, das von NIRENSTEIN beschriebene Auftreten der großen fetttröpfenähnlichen Gebilde, ebenso wie in den bei BOZLER beschriebenen Fällen, als pathologischen Vorgang anzusehen, der hier vielleicht nicht so schwere, oder nicht so schnell wirkende Zellschädigungen zur Folge hatte.

Es hat bisher noch nicht festgestellt werden können, ob sich die großen fetttröpfenartigen Gebilde chemisch von der Granulumsubstanz unterscheiden (BOZLER). NIRENSTEIN selbst glaubt, daß es sich bei diesen Gebilden um einen Zerfall lipoider Verbindungen handelt, wobei diese Granula den normalen gegenüber durch einen höheren Gehalt an Fettsäure ausgezeichnet sind. Von einer genauen Analyse dieser Gebilde wird es abhängen, ob die Folgerungen, die NIRENSTEIN aus dem färberischen Verhalten gerade dieser Gebilde zieht, noch in vollem Umfang gültig sind.

Färbungsversuche. Zunächst seien einige Worte über die Technik vorausgeschickt. Von den einzelnen Farbstoffen wurden 1proz. Stammlösungen in aq. dest. angesetzt, die dann mit aq. dest. oder Leitungswasser weiter verdünnt wurden (die Messungen wurden mit einer 1 ccm fassenden hundertteiligen Meßpipette vorgenommen). Es wurde dann in Salznäpfchen zu 1 ccm Paramäcien enthaltender Kulturlösung die Farblösung der gewünschten Konzentration in Mengen von 1 ccm oder 0,1 ccm zugefügt; wenn möglich, wurde immer das erste Verfahren mit Rücksicht auf eine gleichmäßigere Verteilung gewählt, nur bei Hungertieren, die gegen eine Verdünnung 1:1 mit aq. dest. oder Leitungswasser sehr empfindlich waren, oder in einigen besonderen Fällen wurde das letztere Verfahren bevorzugt. Bei den angegebenen Konzentrationen ist in gleicher Weise die Verdünnung der Farblösung bei der Zugabe zur Kulturflüssigkeit mitberücksichtigt worden.

Die Beobachtung der sehr beweglichen Tiere hat vielen Autoren Schwierigkeiten bereitet. Von der Übertragung der Tiere in zähe Medien, wie Quittenschleim und Gelatine mußte abgesehen werden, da die Tiere durch die osmotischen Veränderungen des umgebenden Mediums anormal beeinflußt wurden (es trat sehr häufig die oben besprochene Vakuolisierung oder Strukturvergrößerung ein). Auch das von NIRENSTEIN angegebene Verfahren, das thigmotaktische Haften der Tiere an Bakterienballen zur Beobachtung auszunutzen, konnte wenig befriedigen. Gewiß mögen auf diese Weise zufällig

die Tiere mit stärkeren Vergrößerungen beobachtet werden können, für Serienbeobachtungen ist das Verfahren, wie NIRENSTEIN selbst angibt, zu zeitraubend. Ich habe daher ein Verfahren angewendet, das in Folgendem besteht: Die Tiere werden in einem kleinen Tropfen Kulturflüssigkeit auf einen Objektträger gebracht, mit einem Deckglasstückchen, ungefähr von der Größe eines Kubikzentimeter, von meist unregelmäßiger Form, bedeckt, das mit Stützen von der gleichen Dicke, wie der Durchmesser der Tiere, abgestützt wird. Als Stützen wurden kleine Stückchen käuflicher Glaswolle mit gutem Erfolg benutzt. Mit einiger Übung gelingt es bald, die Fädchen von geeigneter Dicke auszuwählen. Nach Auflegen des Deckglases schwimmen die Tiere zunächst noch frei herum, wird dann aber mit einer Mikropipette das überflüssige Wasser sehr vorsichtig abgesaugt, so kann man erreichen, daß das Tier ganz leicht am Deckglas haftet. Die Beobachtung unter dem Mikroskop zeigt, daß die Gestalt des Tieres unverändert ist und die Organe ganz normal funktionieren. Die Cilien bewegen sich wie immer, die Bildung der Nahrungsvakuolen geht vor sich wie im beweglichen Tier, ist sogar, wenn das Cytostom seitlich liegt, besonders schön zu beobachten; die Plasmaströmung geht ungehindert weiter, die Pulsationsfrequenz der kontraktilen Vakuolen zeigt freischwimmenden Tieren gegenüber keinen Unterschied. Bei geschickter Handhabung des Verfahrens ist es möglich, die Tiere mit Immersionsvergrößerungen einige Minuten zu beobachten, ohne daß sie sich im geringsten bewegen. Nach dieser Zeit reißen sich die Tiere meist los, sie schwimmen nach Wasserzugabe wieder ganz normal davon. Diese Methode unterscheidet sich von der vieler Autoren, die die Tiere einfach durch Deckglasdruck festlegten, und gegen die mit Recht sehr viele Bedenken geltend gemacht werden, sehr wesentlich; ich möchte nochmals betonen, daß — Stützen von richtiger Dicke und vorsichtiges Absaugen vorausgesetzt — von einer Veränderung der Körperform oder der Tätigkeit der Organe nicht das Geringste zu bemerken ist. Sollten die gleichen Tiere mehrmals untersucht werden, so wurden sie auf dem Objektträger nach Zugabe von etwas Wasser in einer feuchten Kammer aufbewahrt.

Gibt man eine stark verdünnte Lösung von N. R. zu einer Paramäcien enthaltenden Kulturlösung hinzu, so erreicht man bei sehr geringen Konzentrationen, z. B. bei *P. caudatum* geringer als 1:10 Mill., nur eine Färbung der N. V., während man bei stärkeren Konzentrationen, etwa 1:1 Mill. oder 1:500 000 nach kurzer Zeit auch eine Granulafärbung erhält. (Die geringste Konzentration, bei der über-

haupt eine Färbung der N. V. stattfindet, ist für *P. caudatum* ungefähr 1:25 Mill.)

Der Vorgang der Bildung der N. V. ist sehr genau von NIRENSTEIN (1905) und später von KHAINSKY (1911) und BOZLER untersucht worden. Der Bildung der N. V. geht eine Einbuchtung des Cytoplasmas am Grunde des Schlundes voraus. Sie füllt sich mit Nahrungspartikeln und das Entoplasma umschließt die so gebildete Vakuole; diese löst sich vom Schlunde ab, wird durch eine Plasmaströmung den von BOZLER beschriebenen Schlundfäden angepreßt und in der Richtung des Hinterendes nach innen ins Plasma befördert. Inzwischen ist schon eine neue Vakuole gebildet, diese löst sich ab, und so fort. Bei einer Konzentration der Farbstofflösung, die oberhalb des für die Granulafärbung charakteristischen Minimums liegt, also etwa 1:1 Mill., ist der Saum der sich bildenden N. V. sehr dicht mit sehr kleinen, rot gefärbten Entoplasmatröpfchen besetzt, die aus der Umgebung von allen Seiten auf die junge Vakuole zuströmen. Das Schicksal dieser Körnchen ist von NIRENSTEIN sehr genau verfolgt worden¹⁾. Sie haften zunächst fest an der Oberfläche der sich ins Innere bewegenden Vakuole, deren Inhalt sich kurz nach Ablösung vom Schlunde allmählich rot gefärbt hat (wenn nicht überhaupt schon gefärbte Nahrungsstoffe eingestrudelt wurden), dringen dann plötzlich, während die Vakuole etwas schrumpft, in diese ein und ballen sich dort zusammen, wobei eine Scheidung zwischen primärem Vakuoleninhalt und Körnchen häufig nicht mehr möglich ist. Nach dieser von NIRENSTEIN als ersten bezeichneten Periode tritt zu Beginn der sog. zweiten Periode eine Vergrößerung der Vakuole auf das ursprüngliche Maß ein, dabei entfärbt sich der Nahrungsballen, während die Farbe der Körnchen, die jetzt wieder sichtbar sind und sich meist vergrößert haben, noch intensiver geworden ist. Sie können sich zu mehreren zusammenballen, nehmen bald an Größe wieder ab, um sich in der Flüssigkeit der Vakuole, die sich jetzt wieder etwas verkleinert hat, aufzulösen. Die Dauer der beiden Perioden wird von NIRENSTEIN für verschiedene Arten von Nahrung und verschiedene Nahrungsdichte in den Vakuolen unterschiedlich angegeben. So soll die erste Periode von 4 Min. bis 1 Stunde (bei reichlicher Nahrung), die zweite bis zur Ausscheidung in der Analregion von 6 Min. bis zu mehreren Stunden dauern. Aus der Entfärbung des Vakuoleninhalts zu Beginn der zweiten

¹⁾ Von der Richtigkeit der Angaben DUNIHUE's (1931), die denen NIRENSTEIN's entgegenstehen, habe ich mich nicht überzeugen können.

Periode schließt NIRENSTEIN, daß die Reaktion in der N. V. während der ersten Periode sauer, während der zweiten alkalisch ist. Die saure Beschaffenheit des Vakuoleninhalts — freie Mineralsäure — soll dabei u. a. die Bedeutung haben, die eingefangene Nahrung, meist Bakterien, abzutöten, während die eigentliche Verdauung erst während der zweiten Periode stattfindet. Den in die N. V. eindringenden Entoplasmakörnchen, die sich nachher wieder auflösen sollen, spricht NIRENSTEIN die Bedeutung eines Verdauungsfermentes zu. Die gleiche Ansicht ist auch von v. PROWAZEK geäußert worden. Hinsichtlich des Schicksals der eingedrungenen Entoplasmakörnchen kommt KHAINSKY zu einem anderen Resultat. Er beschreibt, daß sich in der zweiten Periode die neu entstandenen intensiv gefärbten Körnchen der Vakuolenwand anlegen und durch diese hindurch ins Entoplasma dringen, während sich der übrigbleibende Vakuoleninhalt entfärbt. Auch KHAINSKY glaubt, daß während der ersten Periode ein Ferment in die N. V. abgeschieden wird, hingegen sieht er nicht die Entoplasmakörnchen als Fermentträger an; die während der zweiten Periode ins Plasma übertretenden Granula sieht er als Assimilationsprodukte an: „Sie sind den“ — frei im Plasma liegenden — „Entoplasmakörnchen, die sich mit basischen Farbstoffen färben lassen, vollkommen gleich und sind die ersten Produkte des Assimilationsprozesses in der N. V., sie sind Produkte der Proteolyse, die in den N. V. unter Einwirkung des sauren Fermentes erfolgt, welches eine gewisse Zeit nach der Ablösung der N. V. vom Schlunde in ihr auftritt.“ Außerdem soll der unverdauliche Rest der N. V. in Beziehung zur Kristallbildung stehen. Schließlich hat sich KOERING (1930) noch eingehend mit den durch N. R. färbbaren Entoplasmakörnchen beschäftigt. Sie glaubt annehmen zu dürfen, daß überall, wo sich N. R. mit Zellbestandteilen verbindet, es sich um Anwesenheit von Enzymen handelt: Neutralrot folge der Nahrung durch den tierischen Körper, es zeige die Anwesenheit von hydrolytischen Prozessen innerhalb der Nahrungsvakuolen und von synthetischen, an die lipoiden Entoplasmakörnchen gebundenen Prozessen an.

Bei meinen eigenen Versuchen habe ich die Angabe KHAINSKY's, daß die während der zweiten Periode neu hervortretenden Körnchen durch die Vakuolenwand hindurch ins Plasma wandern, in vielen Fällen bestätigen können, und zwar am besten bei Tieren, die in ein nahrungsarmes Medium überführt worden waren. Bei Tieren, denen reichlich Nahrung zur Verfügung steht, wo sich dementsprechend in kurzer Zeit viele Vakuolen bilden, die schnell durch

den Körper hindurchwandern, sich nach kurzer Zeit entfärben und ausgeschieden werden, kann man den Verbleib der Entoplasmakörnchen während der zweiten Periode schlecht verfolgen. Zu diesem Zwecke eignen sich Tiere, denen nicht viel Nahrung zur Verfügung steht, weit besser. Verfährt man praktisch so, daß man Tiere aus einer alten Heukultur, die an sich schon kein besonders gutes Nährmedium bietet, entfernt, in Leitungswasser überträgt und mit einer schwachen Farblösung färbt, so kann man nach etwa einer halben Stunde beobachten, wie die Bildung neuer N. V. immer seltener erfolgt, bis sie nach kurzer Zeit fast ganz aufhört. Dabei liegen immer eine Reihe gefärbter N. V. im Tier, während man entfärbte N. V. häufig überhaupt nicht findet. Nach dem Aussehen dieser Vakuolen muß ich schließen, daß sie sich am Ende der ersten Verdauungsperiode befinden und das auch von NIRENSTEIN beschriebene, häufig mehrere Stunden dauernde, Ruhestadium durchmachen. Von GREENWOOD (1894) ist für diese Ruheperiode eine Zeit bis zu 20 Stunden angegeben; ich habe ähnliche Zeiten oft beobachtet. Taf. 4 Fig. 1 zeigt eine Vakuole dieses Stadiums, es entspricht etwa den von NIRENSTEIN unter Fig. 3c—3d abgebildeten. Nach längerer Zeit, meist von 5—24 Stunden — das hängt von dem Ernährungszustand, in dem das Tier vor Beginn des Versuches war, ab — sieht man an einigen Vakuolen charakteristische Veränderungen auftreten. Textfig. 17 zeigt eine Partie des Entoplasmas eines Tieres 24 Stunden nach Beginn des Versuches. Es waren nur noch zwei unveränderte N. V. in dem Tiere vorhanden, eine (a) zeigt das Aussehen einer Vakuole zu Beginn der zweiten Periode (nach Entfärbung des Inhalts, NIRENSTEIN Fig. 4d), die übrigen zeigten mehr oder weniger zahlreiche, intensiv rotgefärbte Kugeln, die teilweise der Wand anliegen, teilweise sich in der Vakuole bewegen. Kügelchen desselben Formates liegen auch frei im Entoplasma, vorzugsweise in der Nähe der N. V., teilweise isoliert. In seltenen Fällen sieht man diese frei im Plasma liegenden Kügelchen von einer Vakuole umschlossen (Textfig. 17, bei b), eine Erscheinung, auf die ich unten zurückkomme. Es kann keinem Zweifel unterliegen, daß es sich bei diesen Gebilden um durch die Vakuolenhaut ins Plasma getretene Kugeln handelt. In einigen günstigen Fällen habe ich den Durchtritt, der sehr schnell erfolgt, auch direkt beobachten können. Die Größe der Kugeln ist dabei, bei verschiedenen Tieren und verschiedenen Versuchen, durchaus nicht gleich. Textfig. 18 stellt etwa die untere Grenze der Größe dieser Gebilde dar, während größere als in Textfig. 17 dargestellte nur selten beobachtet wurden.

Es kann nach dieser Beobachtung nicht zweifelhaft sein, daß es sich um dieselben Zerfallsprodukte der N. V. handelt, die KHAJNSKY beschrieben hat, und die er als die ersten Produkte der Assimilation (Resorption) betrachtet. Sind aus einer Vakuole alle Kugeln ausgewandert, so läßt sich über den Verbleib des häufig sehr kleinen, ungefärbten Restes wenig sagen; ich halte KHAJNSKY'S Annahme, daß er zu den Exkretkristallen in Beziehung steht, in gewissem Sinne für möglich; ich werde in meinen weiter unten mitzuteilenden Versuchen mit Diffusfärbern auf eine ähnliche Er-

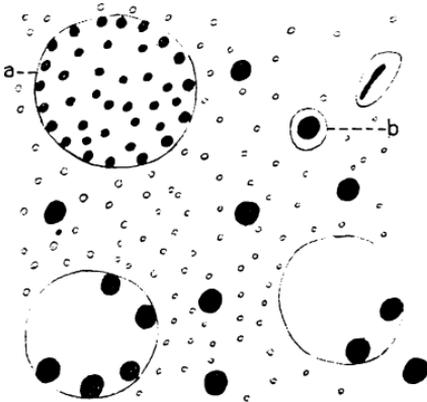


Fig. 17. *P. caud.* Vergr. 1:1730.
24 Stunden nach Einwirkung von Neutralrot 1:100 000. (Die schwarz wiedergegebenen Granula sind in Wirklichkeit rot wie in Taf. 4 Fig. 1.)

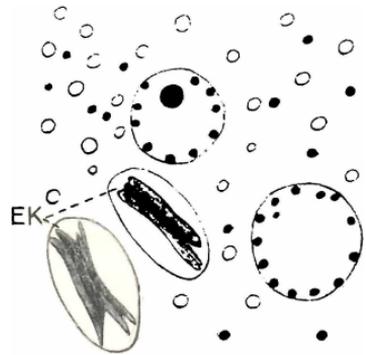


Fig. 18. *P. multi.* Vergr. 1:1730.
18 Stunden nach Einwirkung von Neutralrot 1:10 Mill. Ek = Exkretkristalle. (Die schwarz wiedergegebenen Granula sind in Wirklichkeit rot entsprechend Taf. 4 Fig. 1.)

scheinung zurückkommen. Auch die Abhängigkeit der Färbung vom Ernährungszustand soll in anderem Zusammenhang besprochen werden.

Die ersten gefärbten Granula bei einer Farbstoffkonzentration, bei der überhaupt Granulafärbung möglich ist, — sicher schon bei 1:10 Mill. — sind die in der Umgebung des Schlundes, die den Saum der sich bildenden N. V. einnehmen und in diese eindringen. Es sind dieses die kleinsten Granula, die, gefärbt oder ungefärbt, überhaupt im Tier vorhanden sind. Ihre Größe wird etwa durch die in Taf. 4 Fig. 1 dargestellten gefärbten Granula angegeben (Granula erster Größenordnung). Bei längerer Farbstoffeinwirkung oder bei höherer Konzentration treten auch im ganzen Tier, zuerst im Hinterende, diese kleinen Granula auf; sie liegen, wovon man sich im Mikroskop leicht überzeugen kann, in den peripheren Schichten des Entoplasmas. Wenn man gewissen Arten von Granula eine Be-

ziehung zur Atmung zusprechen will, wie dies z. B. PÜTTER (1900) tut, so hat man, wie ROSKIN und LEVINSOHN (1926) hervorheben, in erster Linie an diese in den oberflächlichen Plasmaschichten zerstreuten Körnchen zu denken. Wie die Färbung dieser Körnchen zustande kommt, ist bei der Kleinheit der Gebilde nicht zu erkennen. Bei einer stärker konzentrierten, für die Tiere unschädlichen Lösung, treten dann überall im Entoplasma kleinere und größere Granula auf, die obere Grenze wird etwa durch die in Taf. 4 Fig. 1 dargestellten ungefärbten Granula angegeben (Granula zweiter Größenordnung). NIRENSTEIN beschreibt für diesen Grad der Farbstoffwirkung das Auftreten einer diffusen Färbung des Plasmas. Ich habe weder bei *N. R.* noch bei Nilblausulfat — unbeschädigte normale Tiere vorausgesetzt — jemals eine diffuse Färbung des Plasmas feststellen können. Allerdings hatte ich auch häufig bei schwächeren Vergrößerungen (LEITZ Obj. 5, womit NIRENSTEIN beobachtete), besonders, wenn die Tiere sich etwas bewegten, den Eindruck, daß das Plasma einen diffusen Farbton angenommen hatte, in allen Fällen ließ aber die Beobachtung mit Immersion an ruhig liegenden Tieren den Irrtum sofort erkennen: bei noch so dichter Granulafärbung war das durchschimmernde Plasma vollständig ungefärbt. Das gilt auch für das Färbungsbild mit noch höheren Konzentrationen.

Bei einer Konzentration von mindestens 1:2 Mill. bei *P. multimicronucleatum*, 1:500 000 bei *P. caudatum* treten auch im Ectoplasma gefärbte Granula auf, die, wie schon PÜTTER feststellen konnte, in reihenförmiger Anordnung dicht unter der Pellicula liegen. Sie sind seither von vielen Autoren beobachtet worden (MAYER, NIRENSTEIN, BOZLER). Dabei wird meist angegeben, daß diese „Perlgranula“, wie sie PENARD bei *Frontonia parvula* genannt hat, besonders am Vorder- und Hinterende auftreten, sich mit der Dauer der Farbstoffeinwirkung vergrößern, durch die Pellicula nach außen treten und gelegentlich abfallen. Die Beobachtung mit Immersion zeigt, daß es sich um eine Anordnung der Perlgranula in Doppelreihen handelt (Textfig. 19); diese entsprechen der Felderung in der Pellicula (Textfig. 20, in gleicher Vergrößerung). In einigen wenigen Fällen konnte ich nun beobachten, wie beim Beginn des Auftretens der Perlgranula unter der Pellicula das Vorderende, etwa $\frac{1}{4}$ — $\frac{1}{5}$ der Längenausdehnung des Tieres, von Perlgranula vollständig frei war, während sich im übrigen Ectoplasma die Perlgranula in Doppelreihen angeordnet fanden (Taf. 4 Fig. 2). Dabei war die Grenze zwischen dem gefärbten und ungefärbten

Teil vollständig scharf, in den meisten Fällen (Taf. 4 Fig. 2) ein Kreis, in weniger häufigen Fällen eine Ellipse, wenn die Grenze schräg zur Längsachse des Tieres verlief. Bei tieferer Einstellung werden die Granula des Entoplasmas überall sichtbar. In diesem Zustand können die Tiere bis zu einer Stunde verbleiben, dann treten plötzlich die Granula durch die Pellicula hindurch, vergrößern sich und haften außen an der Pellicula, wobei die regelmäßige An-

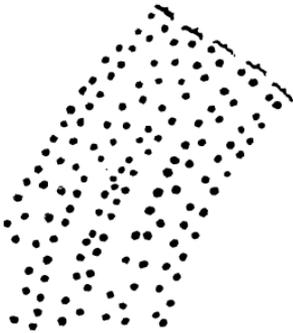


Fig. 19. *P. caud.* Vergr. 1:2300.
6 Stunden nach Einwirkung von Neutralrot 1:500 000. (Die schwarz wiedergegebenen Granula sind in Wirklichkeit rot wie in Taf. 4 Fig. 2.)

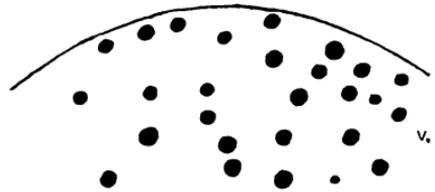


Fig. 21. *P. multi.* Vergr. 1:1730.
24 Stunden nach Einwirkung von Neutralrot 1:200 000. v = vorn, m = Mitte, h = hinten. (Die schwarz wiedergegebenen Granula sind in Wirklichkeit rot wie in Taf. 4 Fig. 2.)



Fig. 20. *P. caud.* Vergr. 1:2300.
Färbung mit Opalblau nach BRESSLAU.

ordnung meistens gestört wird. Inzwischen sind auch unter der Pellicula des Vorderendes Granula erschienen, ihre Anordnung weist meist nicht die Regelmäßigkeit der anderen auf, sie treten schnell durch die Pellicula hindurch, vergrößern sich stärker als die des übrigen Tieres, so daß jetzt die am Vorderende unregelmäßig angeordneten Granula die des Hinterendes und der Mitte an Größe übertreffen (Textfig. 21). Damit ist dann allerdings der Zustand erreicht, den andere Autoren auch beschrieben haben: das Auftreten der Perlgranula besonders am Vorderende. Man kann diese zonale

Verteilung der Perlgranula etwas bequemer und häufiger beobachten, wenn man höhere Farbstoffkonzentrationen, die die Tiere innerhalb weniger Stunden töten, wenn sie darin verbleiben (etwa 1:50 000), die sie aber anstandslos vertragen, wenn man sie nach kurzer Zeit (10 Min.) daraus entfernt, verwendet. So kann man bei der genannten Konzentration die zonale Verteilung bei vielen Tieren — bei weitem nicht bei allen — beobachten, allerdings ist sie von kurzer Dauer. Innerhalb weniger Minuten erfolgt meist schon der Durchtritt nach außen und damit das Ende der regelmäßigen Anordnung. Die Angabe von NIRENSTEIN, daß die Perlgranula gelegentlich abfallen, kann ich dahin erweitern, daß sie bei nicht tödlichen Konzentrationen regelmäßig, bei höheren häufig, meist innerhalb einer Stunde verschwunden sind. Zwingt man mit Perlgranula behaftete Tiere, an den Deckglasstützen vorbei zu schwimmen, was von selbst geschieht, wenn die sie umgebende Flüssigkeit verdunstet, so kann man die Perlgranula bei der Berührung mit dem Fremdkörper in Massen abfallen sehen. Sie bewegen sich in Spiralen fort und entfärben sich kurz, nachdem sie die Pellicula verlassen haben; eine ungefärbte Kugel bleibt zurück.

Ihrer Natur nach wurden die Perlgranula meist für Basalkörner der Wimpern gehalten, ein Irrtum, der schon von MAYER berichtigt wurde, was aber KOEHRING nicht daran hindert, sie trotzdem noch als solche anzusehen. BOZLER hält sie, ebenso wie schon v. PROWAZEK (1898), für Exkretkörner; ich glaube diese Ansicht bestätigen zu können; da sie in ungefärbten Zellen bisher noch nicht beobachtet worden sind, auch nur bei stärkeren Konzentrationen auftreten, halte ich sie für die einfachste Einrichtung der Zelle, sich schädlich wirkender Farbstoffmengen auf die schnellste Weise zu entledigen. Dabei scheint diese Einrichtung aber auf Entfernung von N. R. beschränkt zu sein; in der Literatur sind immer nur Perlgranula bei N. R.-Färbung beschrieben worden, ich selbst habe in einem einzigen Falle bei Nilblausulfat in tödlicher Dosis eine Anordnung der Granula auf der Außenseite der Pellicula am Vorder- und Hinterende beobachten können, dabei funktionierten die Organe des Tieres aber schon nicht mehr normal. Eine Erklärung für diese spezifische Wirkung von N. R. läßt sich bislang noch nicht geben. PENARD, der bei *Frontonia* das Auftreten von Perlgranula beobachtete, glaubt, daß es sich um Verteidigungsorgane, sog. Protrichocysten handelt; auch CALKINS sieht sie als solche an.

Bei der Frage, wodurch das Vorderende des Tieres vor den übrigen Teilen ausgezeichnet ist, könnte man zunächst an eine

histologisch oder physiologisch unterschiedliche Beschaffenheit der Pellicula denken. BRESSLAU-Präparate beider Paramäcien zeigten nichts Auffälliges, auch aus den Arbeiten von KLEIN über die Silberliniensysteme von *P. caudatum* waren keine Anhaltspunkte zu gewinnen. Überhaupt ist es mir nicht wahrscheinlich, daß die Pellicula eine große Rolle bei diesem Vorgang spielt, denn bei der schließlichen Durchdringung läßt sie ja auch durch das Vorderende Granula hindurch. Es bleibt daher vorläufig nichts anderes übrig, als eine physiologische Differenzierung des Ecto- oder Entoplasmas — vermutlich peripherer Schichten — für die Aufnahme und Abgabe von N. R. bestimmter Konzentrationen festzustellen, in der Weise vielleicht, daß die Zelle die Fähigkeit besitzt, den Farbstoff von den peripheren Schichten des Entoplasmas des Vorderendes eine gewisse Zeit fernzuhalten, wenn dieses aber nicht mehr möglich ist, ihn aus diesem ausgezeichneten Teil besonders schnell zu entfernen.

Zum Vergleich möchte ich noch einige Arbeiten über ein unterschiedliches Verhalten des Vorderendes von *Paramaecium* bei der Einwirkung von Zellgiften erwähnen. CHILD und DEVINEY (1926) konnten zeigen, daß bei *P. caudatum* eine unterschiedliche Aufnahmefähigkeit hinsichtlich der Einwirkung von Basen und Säuren, von N. R. in sofort tödlichen Dosen, ultravioletter Bestrahlung und O₂-Mangel besteht, und zwar zeigt das Vorderende die größte Empfindlichkeit gegen diese Einwirkungen. Die Stoffe dringen dort am schnellsten ein und zerstören das Vorderende zuerst, hier werden zuerst die Trichocysten abgeschossen, auch der Abbau von N. R. soll im Ectoplasma des Vorderendes zuerst erfolgen. PEEBLES konnte bei Versuchen über Regeneration und Regulation bei *P. caudatum* zeigen, daß das Vorderende von *P. caudatum* stärker differenziert ist und die Regenerationsmöglichkeit bei der Entfernung des Vorderendes sich verringert.

Wir haben bisher nur die Granulafärbung zu Beginn der Farbstoffeinwirkung betrachtet, wir müssen jetzt den weiteren Verlauf dieser Färbung untersuchen, und zwar soll sie zunächst an solchen Tieren betrachtet werden, die in einer Farblösung, die für sie noch gerade unschädlich ist, verbleiben, ohne daß der Farbstoff entfernt oder Nahrung hinzugegeben wird. Betrachten wir z. B. *P. caudatum* unter der Einwirkung einer Konzentration von 1:500000. Es werden N. V. und alle Arten von Granula gefärbt, nach etwa 1 Stunde ist das Färbungsmaximum erreicht. Eine Beobachtung nach 6 Stunden zeigt eine Veränderung nur insofern, als die Zahl der N. V. abgenommen hat. Nach 24 Stunden ist, je nach dem Nahrungsgehalt

der Kulturflüssigkeit, die Zahl der N. V. zurückgegangen, zuweilen sind überhaupt keine mehr oder nur deren Zerfallsprodukte vorhanden, die Zahl der gefärbten Granula ist zurückgegangen, die Färbung des Tieres erscheint dementsprechend schwächer. Dabei fällt auf, daß die gefärbten Granula in kleinen Gruppen beisammenliegen, wie es Textfig. 22 zeigt. Es handelt sich meist um kleine Granula (etwas größer als die mit erster Größenordnung bezeichneten).



Fig. 22. *P. caud.* Vergr. 1 : 400. 28 Stunden nach Einwirkung von Neutralrot 1 : 500 000. (Die schwarz und dunkelgrau wiedergegebenen Nahrungsvakuolen und Granula sind in Wirklichkeit rot wie in Taf. 4 Fig. 1.)

Der Umfang einer solchen Gruppe ist etwa der einer N. V. Man könnte zunächst glauben, daß es sich um die oben beschriebenen Zerfallsprodukte der N. V. handelt, die weiter verarbeitet worden sind; möglicherweise trifft dieses für einige Gruppen zu, sicherlich aber nicht für alle. Nach 2 (bis 4) Tagen, wenn alle N. V. verschwunden sind, hat sich das Bild erheblich geändert: bei schwacher Vergrößerung erscheinen die Tiere nur schwach gefärbt, das Plasma weist häufig Vakuolisierung auf; bei stärkerer Vergrößerung erkennt man zahlreiche mattrot gefärbte Bläschen, größer als die Granula zweiter Größenordnung, in Einzelfällen bis zu dreifacher Granulagröße. Sie unterscheiden sich von den Granula sofort durch ihre geringere Dichte, außerdem sind sie am Rande stärker gefärbt als in der Mitte, so daß sie schärfer umrandet als die Granula erscheinen. Ungefärbte Flüssigkeitshöfe, wie sie NIRENSTEIN bei den großen fettropfenartigen Gebilden beschreibt, waren in keinem Falle vorhanden. Häufig kann

man nun beobachten, besonders bei Tieren, die die Strukturvergrößerung des Plasmas zeigen, wie in ganz schwach gefärbten Bläschen kleinere und größere stärker gefärbte Körnchen von Granulagröße und Granulaaussehen darinliegen und sich heftig bewegen (Taf. 4 Fig. 3). Eine Beobachtung mit den stärksten Vergrößerungen zeigt, daß sie allmählich kleiner werden und sich auflösen, so daß dann ein mattrot gefärbtes Bläschen zurückbleibt. Kleine gefärbte Granula liegen neben ungefärbten auch noch frei im Plasma. Es kann wohl keinem Zweifel unterliegen, daß es sich

hier um die Auflösung der Granula handelt, ein Vorgang, der hier dank der weniger großen Dichte des Plasmas und der damit zusammenhängenden Strukturvergrößerung direkt beobachtet werden kann. Man kann diese Auflösung der Granula regelmäßig auch an Hungertieren beobachten, wenn man einige Zeit nach der Farbzugabe beobachtet. Taf. 4 Fig. 3 ist nach einem solchen Tier, das 20 Tage ohne Nahrungszufuhr gehalten und dann mit einer Konzentration von 1:2 Mill. gefärbt wurde, 1½ Stunden nach der Farbzugabe gezeichnet. An anderen Einschlüssen weisen die Tiere zahlreiche Kristalle, frei oder in Vakuolen, auf; dieselben sind neben ungefärbten Granula auch nach mehreren Tagen die einzigen auffälligen Einschlüsse des Plasmas.

Es entstand hiernach die Frage, ob dieselbe Erscheinung auch an Tieren, die unter guten Ernährungsbedingungen stehen und die normale Menge von Granula aufweisen, zu beobachten ist. Dazu mußten sich am besten Tiere eignen, bei denen sich eine Strukturvergrößerung künstlich hervorrufen ließ. In der Tat war es möglich, bei mit Nilblausulfat gefärbten Tieren, bei denen diese Strukturvergrößerung häufig — bei weitem nicht immer — durch Zugabe der Farblösung auftritt, die Granula enthaltenden Bläschen zu finden. Dabei eignete



Fig. 23. Erklärung im Text. Schematisch.

sich am besten *P. multimicronucleatum* und eine Lösung Nilblausulfat von 1:1 Mill. zu diesen Versuchen. Untersucht man solche vakuolisierten Tiere 1 Stunde nach Zugabe der Farblösung, so sieht man in schwach blaugefärbten Bläschen intensiv gefärbte Granula von verschiedener Größe sich bewegen. Dabei mußte ich feststellen, daß, umgekehrt wie bei den Hungertieren die Granula sich meistens nicht auflösten, sondern vergrößerten. Der Vorgang verläuft im einzelnen folgendermaßen (Textfig. 23): Beobachtet man ein leeres, ganz schwach gefärbtes Bläschen von zwei- bis dreifacher Größe der Granula zweiter Größenordnung, so sieht man plötzlich ein winziges, aber gleich intensiv gefärbtes Körnchen darin auftauchen. Es vergrößert sich rasch, wobei es sich dauernd im Bläschen hin und her bewegt. In demselben Maße, wie sich das Körnchen vergrößert, verkleinert sich das Bläschen; ist dessen Durchmesser etwa doppelt so groß wie der des Körnchens geworden, so verläuft die weitere Vergrößerung erheblich langsamer als bisher. Schließlich aber ist das Bläschen nur noch wenig größer als das jetzt zur Größe eines Granulums zweiter Größenordnung herangewachsene Körnchen, bis man zuletzt die Hülle des Bläschens überhaupt nicht

mehr unterscheiden kann: das Körnchen ist zu einem frei im Plasma liegenden Granulum zweiter Größenordnung geworden. Der ganze Vorgang ist in etwa 2 Min. beendet.

Bisweilen kommt es vor, daß der Farbton eines Bläschens dunkler wird, ohne daß man im Inneren ein Körnchen auftreten sieht. Der Farbton kann dabei an den normaler freier Granula heranreichen; das Bläschen verkleinert sich nur wenig, so daß es als Gebilde von bis zu dreifacher Granulagröße und Granulafarbtönen im Plasma liegt. Dabei läßt sich aber im Gegensatz zum normalen Granulum noch deutlich eine intensiver gefärbte Randzone von einer helleren Zentralzone unterscheiden.

Den umgekehrten Vorgang, die Auflösung eingeschlossener Granula, habe ich bei diesen Tieren nur höchst selten beobachtet, wenn ich von den Fällen absehe, bei denen es sich um Tiere, die kurz vor dem Absterben standen, handelt. Es sei noch darauf hingewiesen, daß bereits v. PROWAZEK (1899) bei mit N. R. gefärbten Tieren „Kügelchen, die häufig ein dunkles Korn bergen“, beobachtet hat; er hielt sie für Exkretkörner, da sie nur bei pathologischen Tieren auftreten.

Vergleicht man diesen Vorgang der Entstehung und Auflösung der Granula bei den hier verwendeten basischen Farbstoffen mit der von v. MOELLENDOFF beschriebenen Entstehung saurer Vitalgranula (siehe unten), so zeigt sich, daß die Bildungsvorgänge vollkommen gleich verlaufen, ein Unterschied besteht nur hinsichtlich des Aufbaues der beiden Granulaarten. Nach v. MOELLENDOFF handelt es sich bei den sauren Granula einfach um eine Ablagerung des Farbstoffes, während der basische Farbstoff an Zellsubstanzen gebunden ist. Daß hier keine einfache Ablagerung des Farbstoffes stattfindet, ist schon daraus zu erkennen, daß beim Zerdrücken der Tiere die betreffenden Granula ihre Farbe sofort verlieren, während für Farbablagerungen (saure Granula) eine Auflösung durch allmähliche Verdünnung als charakteristisch angegeben wird (v. MOELLENDOFF, 1920). Man muß also zu dem Schluß kommen, daß der basische Farbstoff sich hier mit der Grundsubstanz des Granulum schon während der diffusen Verteilung irgendwie verbunden hat, bevor das Granulum sichtbare Größenordnung annahm. Es scheint mir deshalb nicht angängig, von Färbung präexistenter Gebilde zu reden, gewiß ist der Farbstoff an Zellsubstanzen gebunden, aber eine sichtbare Speicherung im Granulum tritt doch erst während dessen Entstehung, gleichzeitig mit der Farbstoffeinwirkung auf.

Natürlich kann keine Rede davon sein, daß bei Färbung mit N. R. 1:500 000 alle gefärbten Granula auf die oben beschriebene Weise entstehen; dies ist sicher nur zu einem kleinen Prozentsatz der Fall. Zum größten Teil wird es sich einfach um eine Anlagerung des Farbstoffes an präformierte Granula handeln, wie das von v. MOELLENDORFF beschrieben ist, um eine direkte Entstehung vielleicht nur in dem Maße, als dies normalerweise im Zelleben auch der Fall ist. Ob dabei minimale Farbstoffmengen an vorhandene Granula oder an neu entstehende gebunden werden, ist nicht zu entscheiden. Immerhin wäre es denkbar, eine Konzentration ausfindig zu machen, bei der gerade soviel Farbstoff in die Zelle gelangt, als durch Neubildung von Granula verbraucht wird: in diesem Falle würde man die Färbung im Rahmen des normalen Zellgeschehens verlaufen sehen. Es sei in diesem Zusammenhang noch auf die Beziehung der Granulaentstehung zu den Vorgängen im GOLGI-Apparat bei Nieren- und Leberzellen hingewiesen, die in den neueren Arbeiten immer mehr betont wird. Dabei nimmt man an, daß es sich bei der Bildung saurer Vitalgranula und der Sekretbildung im GOLGI-Apparat um ganz ähnliche Vorgänge handelt. NASSINOV (1926) gibt an, daß es sich bei dieser Sekretbildung, ebenso wie bei der Entstehung saurer Vitalgranula, um einen rein physikalischen Prozeß, eine Konzentrierung der im Plasma vorhandenen Stoffe handelt. Nun sind aber auch mit N. R. Granula, die ihre Entstehung zweifellos der Tätigkeit des GOLGI-Apparates verdanken, von verschiedenen Autoren gefärbt worden. Das ist auch zu erwarten, wenn es sich um fertige, vom GOLGI-Apparat abgeschiedene Sekretgranula handelt, es mußte aber überraschen, als unter dem Einfluß einer basischen Farbe Neubildungen von gefärbten Granula hervortraten. So hat CHLOPIN (1927) (bestätigt von LUDFORD, 1931) solche Neubildungen beobachtet, so daß dieser Verfasser zu dem Schluß kommt, daß „neben der einfachen Tingierung der präexistenten Einschlüsse mit N. R. diese Farbe in einigen Fällen als Neubildung — als Resultat der sekretorischen Tätigkeit der Zelle — auftreten kann“.

Ich glaube, daß man aus diesen Erscheinungen auch einen Schluß auf die Bedeutung der Granula zweiter Größenordnung ziehen kann. Aus der Tatsache, daß ein Aufbau aus flüssigen Zellsubstanzen bei gut ernährten Tieren, eine Auflösung bei Hungertieren zu beobachten ist, scheint mir mit großer Wahrscheinlichkeit hervorzugehen, daß es sich bei den Granula zweiter Größenordnung um Reservestoffgranula handelt, wie dies schon von WALLENGREN

vermutet wurde. Hingewiesen sei auch noch darauf, daß die Zerfallsprodukte der N. V. öfters in Bläschen eingeschlossen liegen (Textfig. 17, bei b); ich möchte annehmen, daß es sich auch hier — beobachten ließ sich das leider nicht — um eine Auflösung der ersten Produkte der Assimilation handelt, der dann — sicherlich nach tiefgreifenden Veränderungen — ein neuer Aufbau zu Reservestoffen folgt. Überhaupt wird in allen Fällen Auflösung und Aufbau gleichzeitig erfolgen, bei schlecht ernährten Tieren wird aber ersterer, bei gut ernährten Tieren letzterer weit überwiegen und damit der Beobachtung zugänglich sein.

Erwähnen möchte ich noch, daß ich eine Entstehung oder Auflösung ungefärbter Granula nicht habe beobachten können. Ob das unmittelbar daran liegt, daß eine Beobachtung am ungefärbten Material sehr viel schwieriger ist, oder ob durch Farbzutritt noch besondere Verhältnisse in der Zelle geschaffen werden, vermag ich vorläufig nicht zu entscheiden; die gezogenen Schlüsse sollen auch nur für mit Neutralrot und Nilblausulfat gefärbte Granula etwa zweiter Größenordnung gelten, ob für alle dieser Art und nur für diese, müssen Untersuchungen anderer Art ergeben. Zu demselben Resultat, daß die Produktion und Resorption der azidophilen Granula in Beziehung zum Reservestoffwechsel steht, ist auch FORTNER (1928) gekommen; er konnte durch Auszählen der Granula eines bestimmten Plasmabezirkes feststellen, daß die Zahl der Granula bei unterbundener Nahrungsaufnahme und ebenso bei Sauerstoffmangel zurückgeht.

Diffusfärbung. Wir haben uns jetzt noch kurz mit der Diffusfärbung zu befassen. Wie NIRENSTEIN (1918) schon beschrieben hat, werden bei niederen Konzentrationen von Diffusfärbem, z. B. Akridingelb, auch nur die N. V., bei höheren das ganze Plasma diffus gefärbt. Die Färbung beginnt am Vorderende, breitet sich dann über das ganze Tier aus, jedoch keineswegs homogen, sondern man kann sehr deutlich stärker gefärbte Komplexe zwischen schwächer gefärbten unterscheiden. Gefärbte Granula irgendwelcher Art treten nicht auf, es kann keine Rede davon sein, daß, wie NIRENSTEIN angibt, die Granula ebenso stark gefärbt sind wie das Plasma; sie sind vielmehr vollständig farblos. Läßt man die Tiere längere Zeit in der Lösung unter den gleichen Bedingungen, wie bei den Granularfarbstoffen, so ist man überrascht, etwa vom 3. Tage ab, die gleichen, hier gelbgefärbten Bläschen wie bei N. R.-Färbung zu finden, ebenfalls am Rande intensiver gefärbt als im Zentrum, ebenfalls, etwa vom 6. Tage ab, sind in ihnen intensiv gelbgefärbte Kügelchen

vorhanden (Textfig. 24 u. Taf. 4 Fig. 4). Der Unterschied gegenüber den Verhältnissen bei N. R.-Färbung besteht einmal darin, daß der Vorgang der Bildung oder Auflösung so langsam verläuft, daß er in keinem Falle beobachtet werden konnte, daß niemals freie Granula im Plasma liegen, dann aber darin, daß die Färbungsintensität der Bläschen und der in solchen vorhandenen Granula mit der Dauer der Farbstoffeinwirkung wächst (etwa bis zum 8. Tage), während bei N. R. oder Nilblausulfat spätestens am 6. Tage jegliche gefärbten Gebilde aus der Zelle verschwunden sind. Dazu kommt, daß diese Bläschen immer in Gesellschaft von freien oder in Vakuolen liegenden Exkretkristallen vorkommen. Die in Vakuolen liegenden Kristalle haben häufig einen diffusen Farbton. Angesichts dieser Unterschiede wird man die Vermutung, es handele sich in diesem und in den bei N. R.-Wirkung beschriebenen Fällen um denselben

Vorgang, fallen lassen müssen. Was in beiden Fällen übereinstimmt, ist lediglich der physikalische Vorgang — Konzentration innerhalb einer Vakuole —, die Bedeutung dürfte eine ganz verschiedene sein. Es dürfte

sich hier um eine Ausscheidung des Farbstoffes in Gestalt von Kristallen handeln; dabei wäre die Konzentrationserhöhung in den Bläschen als Vorstufe zur Auskristallisation anzusehen. Eine ähnliche Beziehung habe ich noch unter anderen Bedingungen bei Akridingelb feststellen können. Textfig. 25 zeigt ein Tier 1 Tag nach einer Färbung mit Akridingelb (A. G.) 1:100000. Die meisten N. V. sind zerfallen, man sieht unscharf begrenzte gelbe Bezirke, die Diffusfärbung des übrigen Plasma ist verschwunden. Textfig. 26 zeigt solche Bezirke bei stärkerer Vergrößerung. Die Lage zu den Exkretkristallen ist so

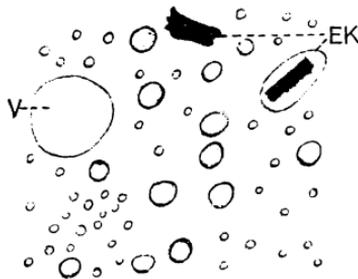


Fig. 24. *P. caud.* Vergr. 1:1730. 3 Tage nach Einwirkung von Akridingelb 1:200 000. Ek = Exkretkristalle, V = Vakuole. (Die grau getönten Bläschen sind in Wirklichkeit gelb entsprechend Taf. 4 Fig. 4.)

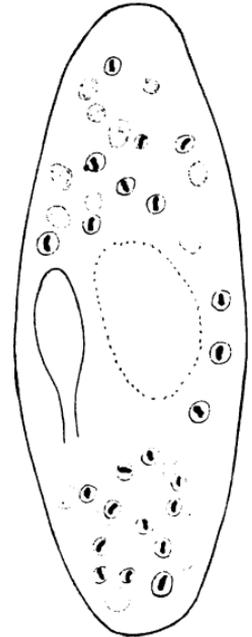


Fig. 25. *P. caud.* Vergr. 1:400. 1 Tag nach Einwirkung von Akridingelb 1:100 000. (Die grau getönten Bläschen sind in Wirklichkeit gelb wie in Taf. 4 Fig. 4.)



Fig. 26. *P. caud.* Vergr. 1:400. 1 Tag nach Einwirkung von Akridingelb 1:100 000. Ek = Exkretkristalle. (Die grau getönten Bezirke sind in Wirklichkeit gelb wie Taf. 4 Fig. 4.)



Fig. 27. *P. caud.* Vergr. 1:400. 1 Stunde nach Einwirkung von Sudan III 1:80 000. (Die grauschwarz wiedergegebenen Kristalle sind in Wirklichkeit braun wie die Exkretkristalle in Taf. 4 Fig. 5.)

Fig. 5). Daß es sich bei den Bläschen nicht um Fettröpfchen handelt, zeigt ihr Verhalten beim Zerdrücken des Tieres; sie zerfallen ebenso wie die Granula.

charakteristisch, daß man kaum zweifeln kann, daß hier irgendwelche amorphen Reste der gefärbten N. V. auskristallisieren. Weitere Beobachtungen über Färbungen mit Sudan III dürften diese Vermutung bestätigen. Aus einer schwach verdünnten Lösung von Sudan III (alkohollöslich) fällt der Farbstoff kristallinisch aus. Läßt man eine Konzentration von 1:80 000 (2 proz. Alkohol) auf *P. caudatum* einwirken, so findet man nach kurzer Zeit im Tier eine Menge Farbstoffkristalle angehäuft (Textfig. 27). Nach 4 Stunden findet man ebenfalls noch Kristalle, doch hat die Zahl erheblich abgenommen; dafür findet man aber jetzt am Grunde des Salznäpfchens eine große Anzahl. (Aus einer Vergleichslösung derselben Konzentration, die keine Tiere enthält, sind nach derselben Zeit noch keine Kristalle ausgefallen.) Die direkte Beobachtung zeigt, daß die Sudankristalle unmittelbar aus dem Tier entfernt werden, sie durchdringen die Pellicula außerordentlich rasch und in kurzer Aufeinanderfolge, augenscheinlich ohne die Pellicula nachhaltig zu schädigen. Wählt man einen günstigen Zeitpunkt für die Beobachtung, so kann man sehen, wie ein Kristall nach dem anderen entfernt wird. Die Tiere zeigen dabei keine sichtbaren Schädigungen irgendwelcher Funktionen. Läßt man die Tiere weiter in derselben Farblösung — N. V. werden bei Sudan III nicht gefärbt — so findet man nach einer Reihe von Stunden schwach gefärbte gelbe Bläschen (Textfig. 28), nach 2 Tagen stark gelbgefärbte Kugeln in diesen und ebenfalls wieder die schwach gelbgefärbten Exkretkristalle in Vakuolen (Taf. 4

Durch diese Versuche scheint mir der Beweis dafür geliefert, daß die Paramäcienzelle aus relativ konzentrierten Lösungen von Sudan III den Farbstoff innerhalb sehr kurzer Zeit gegenüber der Umgebung enorm konzentrieren, in die Kristallform umwandeln und in dieser Form direkt aus der Zelle entfernen kann. Bei schwächeren Konzentrationen und bei längeren Farbstoffwirkungen dauert dies entsprechend länger; aus der Farbe und Form der auf die letzte Weise entstandenen Kristalle darf man schließen, daß es sich nicht um reine Sudankristalle handelt, daß hier sich vielmehr Zellabbauprodukte und Farbe zu einem komplizierten Exkretstoff vereinigt haben. Nach SCHEWIAKOFF (1894) soll die Entfernung normaler Kristalle aus dem Zelleib von Paramäcien durch Auflösung in der Nähe der kontraktilen Vakuole geschehen; hier ist jedenfalls ein Beispiel vorhanden, welches zeigt, daß in besonderen Fällen Kristalle auch durch die Pellicula nach außen geschafft werden können. Wie es sich hinsichtlich der bei A. G. und Sudan III in schwächeren Konzentrationen auftretenden Kristalle verhält, vermag ich nicht zu entscheiden.

Ich halte es für möglich, daß auch sie durch die Pellicula entfernt werden.

Der Vorgang der Exkretkristallbildung nach Einwirkung vitaler Farbstoffe ist an tierischen Zellen bisher nur selten beobachtet worden, so von FISCHER in den Epithelzellen von Salamanderlarven, von IVANS und SCOTT in Bindegewebszellen und von GICKELHORN und KELLER (1929) bei *Daphnia magna*. In pflanzlichen Zellen sind Exkretkristalle nach Farbstoffeinwirkung viel häufiger gefunden worden, es sei hier auf die Arbeit von GICKELHORN verwiesen, die eine Zusammenstellung enthält. Nach GICKELHORN ist für Kristalle, die nach Einwirkung von Vitalfarben entstehen, eine unregelmäßige Begrenzung charakteristisch, welche daher rührt, daß diese „Somatoiden Kristallformen“ durch die „während ihrer Bildung herrschenden Bedingungen der Umgebung eine andere individuelle Körperlichkeit erfahren, als die durch Kristallisation aus homogenen Mutterlaugen entstandenen“.

Es fragt sich nun, ob diese Einzelbeobachtungen bei Granula- und Diffusfärbem zu einem einheitlichen Bild zusammengefaßt



Fig. 28. *P. caud.* Vergr. 1 : 1730. 18 Stunden nach Einwirkung von Sudan III 1 : 800 000. (Die dunkelgrau getönten Bläschen sind in Wirklichkeit rot-braun wie in Taf. 4 Fig. 5.)

werden können. Wir haben gesehen, daß v. MOELLENDORFF die normalen Zellgranula mit künstlich entstandenen sauren Granula vergleicht, und daß hinsichtlich ihres Verhaltens zu basischen Farbstoffen vollkommene Übereinstimmung besteht. Die Entstehung der sauren Granula durch allmähliche Konzentration innerhalb von Vakuolen (siehe oben) ist oft beobachtet worden; man sollte daher auf Grund des obigen Vergleichs annehmen dürfen, daß die normalen Zellgranula auf ähnliche Weise entstehen. Nun ist dieser Vorgang der direkten Beobachtung bisher verschlossen geblieben; meine oben angeführten Versuche haben aber gezeigt, daß unter der Einwirkung basischer Farbstoffe, denen man bisher nur eine Färbung präexistenter Gebilde zugesprochen hat, in besonderen Fällen die Entstehung gefärbter Granula zu beobachten ist, und zwar entstehen diese Granula ganz auf dieselbe Weise wie die künstlich erzeugten sauren Granula. „Dabei tritt nämlich der Farbstoff zunächst diffus in der Zelle auf, ist hier aber wegen der großen Verdünnung unsichtbar; erst wenn der vorhandene Farbstoff in Vakuolen, die sich im Plasma bilden, konzentriert wird und eine Aggregation der Farbstoffteilchen zu mikroskopisch sichtbaren Gebilden stattgefunden hat, tritt er in Form von sichtbaren Granula hervor. Die jungen Granula befinden sich in lebhafter BROWN'scher Molekularbewegung, wachsen heran und gelangen schließlich frei ins Plasma, wobei der Vakuolenhof schwindet“ (zitiert nach HIRSCH). Da normalerweise mit basischen Farbstoffen gefärbte Granula mit Zellgranula zu identifizieren sind, so darf man wohl aus dieser Entstehung der basischen Granula auf die normaler Zellgranula schließen. Da aber andererseits saure und basische Granula, wie wir gesehen haben, physikochemisch ganz verschieden sind (die einen eine Farbstoffablagerung, die anderen eine Verbindung mit Zellsubstanzen), so darf man vermuten, daß der einheitliche physikalische Prozeß, dem so verschiedene Gebilde ihre Entstehung verdanken, ein im Zelleben ganz allgemein vorkommender Prozeß ist. Diese Vermutung wird bestärkt durch die Beobachtungen über Diffusfärbung. Hierbei tritt wieder derselbe physikalische Prozeß (Konzentration oder Auflösung innerhalb eines Bläschens) auf, der hier, wie wir gesehen haben, eine ganz andere Bedeutung hat (Konzentrationserhöhung, die zur Exkretkristallbildung in Beziehung steht). Aus allen diesen Erwägungen geht hervor, daß man die Bläschen, in denen sich der physikalische Prozeß abspielt, als ein Grundelement des Plasmas zu betrachten hat. Diese Forderung entspricht der Ansicht, die man sich in neuerer Zeit über den Bau

des Protoplasmas gemacht hat. SPEK betrachtet das lebende Plasma als ein zweiphasiges System, dessen disperse Phase aus unzähligen Wasserbläschen besteht, die, von einer derberen Hülle umgeben, mit dem hyaloplasmatischen Dispersionsmittel eine typische Emulsion bilden. Wie SPEK gezeigt hat, sind diese gewöhnlich wegen ihrer Kleinheit bei *P. caudatum* unsichtbar, sie vergrößern sich aber unter bestimmten Bedingungen infolge von Dispersitätsverminderung: das Plasma zeigt Strukturvergrößerung (siehe oben). Dieser Fall liegt beim Auftreten unserer Bläschen gerade vor (es wurde darauf hingewiesen, daß mit dem Auftreten derselben häufig eine Strukturvergrößerung des ganzen Plasmas verbunden ist). Die Strukturvergrößerung bewirkt, daß die Entstehung der Granula und Exkretkugeln überhaupt zu beobachten ist, ihr relativ seltenes Auftreten erklärt, warum sie normalerweise nicht beobachtet werden kann. Da diese Wasserbläschen als ständig vorhandenes Zellelement anzusehen sind, darf man sie als Träger sich fortlaufend abspielender physikalischer Prozesse ansehen. In Grundelementen des Plasmas läuft ein physikalischer Elementarprozeß ab, der die verschiedensten Aufgaben im Zelleben zu erfüllen hat, wie z. B. Bildung von Reservestoffgranula und Exkretkugeln. Man wird sich demnach vorstellen dürfen, daß im normalen Zelleben die Granula diesen Bläschen ihre Entstehung verdanken, daß vorhandene Granula in ihnen aufgelöst und Exkretstoffe, vielleicht alle Ablagerungsprodukte des sich im intragranulären Plasma abspielenden Stoffwechsels in ihnen angereichert werden.

Wie stehen nun die Angaben der Literatur zu diesen Vorstellungen? Schon v. MOELLENDORFF hat die Möglichkeit einer solchen Entstehung der basischen Granula in Erwägung gezogen, er verwirft sie aber, weil schon die allgemeine Betrachtung des Färbevorganges gegen eine solche Annahme spreche. Seine Ansicht war zweifellos solange gültig, als man nur eine Färbung präexistenter Gebilde mit basischen Farbstoffen kannte. Derselbe Autor nimmt aber weiterhin selbst an, daß Abbauprodukte der Eiweiße und Fettsäuren (das sind Bestandteile der Granula), falls sie in kolloidaler Form auftreten, als Granula durch Konzentrierung in Vakuolen entstehen können. Dann spricht auch schon die Bestätigung der Auffassung ARNOLD'S, daß die Granula sich mit der Dauer der Farbstoffeinwirkung vergrößern, zu der v. MOELLENDORFF und NIRENSTEIN gelangen, zugunsten der angeführten Entstehungsweise. Schließlich sei noch auf die Vorgänge im GOLGI-Apparat der Metazoen hingewiesen. Wie oben erwähnt, haben CHLOPIN und LUDFORD die

Entstehung gefärbter Granula unter der Einwirkung basischer Farben beobachtet. LUDFORD kommt daher zu dem Schluß, daß es keinen grundlegenden Unterschied zwischen der Vitalfärbung mit basischen und sauren Farbstoffen gibt, eine Ansicht, die in der neueren Literatur über Vitalfärbungen bei Metazoen vorwiegend vertreten wird. Somit haben diese Untersuchungen also zu demselben Resultat geführt wie die hier mitgeteilten an Protozoen.

Wir haben hiermit die Färbungserscheinungen bei Granula- und Diffusfarbstoffen kennengelernt und können uns jetzt den Unterschieden in der Färbung von *P. caudatum* und *P. multimicronucleatum* zuwenden, dabei müssen wir zunächst noch einmal auf die Abhängigkeit der Färbung von der Ernährung eingehen, die wir jetzt schon öfters gestreift haben.

3. Nachweis der physiologischen Unterschiede.

α) Abhängigkeit der Färbung von der Ernährung.

Versuchsgruppe I. Um den Einfluß der Ernährung auf die Färbevorgänge zu ermitteln, wurde in der Weise vorgegangen, daß Tiere, die demselben Kulturmedium entnommen waren, in verschieden gute Nährlösungen übertragen wurden. Es wurden Tiere aus Heukulturen in eine 0,025proz. Lösung von LIEBIG'S Fleischextrakt gebracht, dort 1—2 Tage belassen, so daß sich konstante Nahrungsbedingungen einstellen konnten, dann in Lösungen, die den Fleischextrakt in größeren Verdünnungen enthielten, übertragen. Eine solche Lösung von Fleischextrakt bietet, wie LOSINA-LOSINSKY (1931) festgestellt hat, für die Paramäcien für kurze Zeit ein vorzügliches Nährmedium, bald aber stellen sich ungünstige Lebensbedingungen ein, die zu einem Aussterben der Kultur führen. Hierauf wird später noch einzugehen sein. Die Tiere wurden mit Neutralrot, in verschiedenen Konzentrationen gefärbt. Der Grad der Färbung wurde mehrere Tage hindurch gemessen — die Tiere verblieben in der Farblösung — und die Resultate tabellarisch vermerkt. Um diese besser vergleichen zu können, wurden sie graphisch aufgezeichnet; dabei ergeben sich zwei Möglichkeiten: die Intensität der Färbung kann in Abhängigkeit von der Zeit bei verschiedenen Konzentrationen oder als Funktion der Konzentration zu verschiedenen Zeiten dargestellt werden. Hier sollen nur Zeitkurven gezeichnet und diskutiert werden. Zunächst muß jedoch eine Einheit für die Farbintensität festgelegt werden. Daß eine einfache kolorimetrische Vergleichung hier nicht zum Ziele führen kann, ist

aus der Darlegung des Färbevorganges im vorigen Abschnitt ohne weiteres klar; es sollen daher die verschiedenen Stufen der Färbung, wie sie bei verschiedenen Konzentrationen oder bei relativ hohen Konzentrationen in zeitlicher Reihenfolge auftreten, als Grundlage für eine Intensitätsverglei- chung genommen werden. Verschiedene Intensitätsstufen seien wie folgt festgelegt:

- 1 = ungefärbt,
- 2 = sehr schwach gefärbte N. V.,
- 3 = schwach gefärbte N. V.,
- 4 = deutlich gefärbte N. V. oder deren Zerfallsprodukte,
- 5 = schwache Granulafärbung (geringe Zahl gefärbter Granula),
- 6 = mittlere Granulafärbung,
- 7 = starke Granulafärbung (maximale Zahl gefärbter Granula),
- 8 = starke Granulafärbung mit über das ganze Tier verteilten Perlgranula.

Diese einzelnen Intensitätsgrade werden — natürlich ganz willkürlich — äquidistant auf der Ordinatenachse aufgetragen. Die

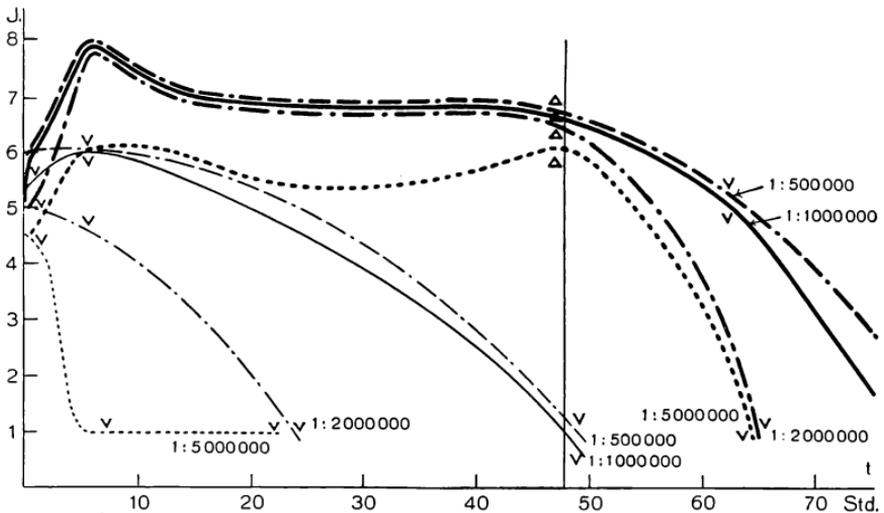


Fig. 29. Abhängigkeit der Färbung von der Ernährung bei *P. multi*. (Fleisch-extrakt 0,025 Proz., Neutralrot), Tiere in der Farblösung verblieben. Fett gezeichnete Kurven: Tiere in normaler Nährlösung, dünn gezeichnete Kurven: Tiere in verdünnter Nährlösung.

Beurteilung des Färbegrades muß auf subjektive Weise erfolgen, nach einiger Übung gelingt es aber leicht, die Einordnung mit großer Sicherheit vorzunehmen.

Die Resultate eines solchen Versuches sind in Tabelle 3 und Textfig. 29 aufgezeichnet. Aus einer Fleischextraktlösung von

0,025 Proz., die *P. multimicronucleatum* in Reinzucht enthielt, wurde eine Anzahl Tiere in eine Lösung, die gegenüber der ersten mit Leitungswasser 1:1 verdünnt war, gebracht und nach 3 Tagen gefärbt; die Resultate wurden verglichen mit solchen, die gewonnen waren an Tieren, die in der Ausgangslösung verblieben und mit denselben Konzentrationen gleichzeitig gefärbt waren. Dabei wurden bei jeder Konzentration in mehreren Salznäpfchen Versuchslösungen angesetzt; angegeben ist immer der Mittelwert, gemessen jeweils an mindestens zehn Tieren. Auf diese Weise glaube ich Unterschiede, die auf einem verschiedenen Alter des Einzeltieres nach der Teilung beruhen, genügend eliminiert zu haben; Conjuganten und Exconjuganten wurden zu solchen Versuchen nicht verwendet.

Tabelle 3.

P. multimicronucleatum.

Zeit	Konzentrationen	Lösung 0,025 %	Lösung 1 : 1 verdünnt
1	2	3	4
30'	500 000	mittlere Granulafärbung N. V.	mittlere Granulaf. keine N. V.
40'	1 Mill.	schwache " "	schwache " " "
45'	2 "	schwache " "	schwache " " "
50'	5 "	ganz schwache " "	ganz schw. " " "
6 Std.	500 000	starke Granulaf. Perlgr. N. V.	mittlere Granulaf. keine N. V.
6 "	1 Mill.	starke " " "	mittlere " " "
6 "	2 "	starke " " "	sehr schw. " " "
6 "	5 "	mittlere " " "	ungefärbt " " "
24 Std.	500 000	starke Granulafärbung N. V.	schwache Granulaf. keine N. V.
24 "	1 Mill.	starke " " "	sehr schw. " " "
24 "	2 "	starke " " "	ungefärbt " " "
24 "	5 "	schwache " " "	ungefärbt " " "
48 Std.	500 000	starke Granulaf. wenige N. V.	ungefärbt keine N. V.
48 "	1 Mill.	starke " " "	ungefärbt " " "
48 "	2 "	mittelst. " keine "	
48 "	5 "	mittlere " " "	
64 Std.	500 000	schwache Granulaf. keine N. V.	
64 "	1 Mill.	schwache " " "	
64 "	2 "	ungefärbt " " "	
64 "	5 "	ungefärbt " " "	
84 Std.		farblos	

Tabelle 4 und Textfig. 30 stellen dieselben Verhältnisse bei *P. caudatum* dar.

Betrachten wir zunächst das Verhalten von *P. multimicronucleatum*. Die Spalten 1—3 der Tabelle 3 zeigen uns noch einmal den Verlauf der Färbung bei verschiedenen Konzentrationen des Farbstoffes;

Tabelle 4.

P. caudatum.

Zeit	Konzentrationen	Lösung 0,025 %	Lösung 1 : 1 verdünnt
1	2	3	4
30'	500 000	mittelst. Granulafärbung N. V.	mittelst. Granulaf. keine N. V.
40'	1 Mill.	schwache " "	schw.-mittl. " " "
45'	2 "	schwache " "	schwache " " "
50'	5 "	schwache " "	schwache " " "
6 Std.	500 000	starke Granulaf. Perlgr. N. V.	tot
6 "	1 Mill.	mittlere " " "	ungefärbt, keine N. V.
6 "	2 "	mittlere " " "	ungefärbt, " "
6 "	5 "	mittlere " " "	ungefärbt, " "
24 Std.	500 000	mittlere Granulaf. keine N. V.	} tot
24 "	1 Mill.	schwache " " "	
24 "	2 "	schwache " " "	
24 "	5 "	schwache " " "	
48 Std.	alle Konz.	ungefärbt, keine N. V.	

z. B. bei 1 : 500 000 ist das Färbungsmaximum nach 6 Stunden, wahrscheinlich schon früher erreicht, nach 24 Stunden sind keine

Perlgranula mehr vorhanden; dieser Zustand ist nach 48 Stunden nur insofern verändert, als die Zahl der N. V. bedeutend abgenommen hat. Nach 64 Stunden sind keine N. V.

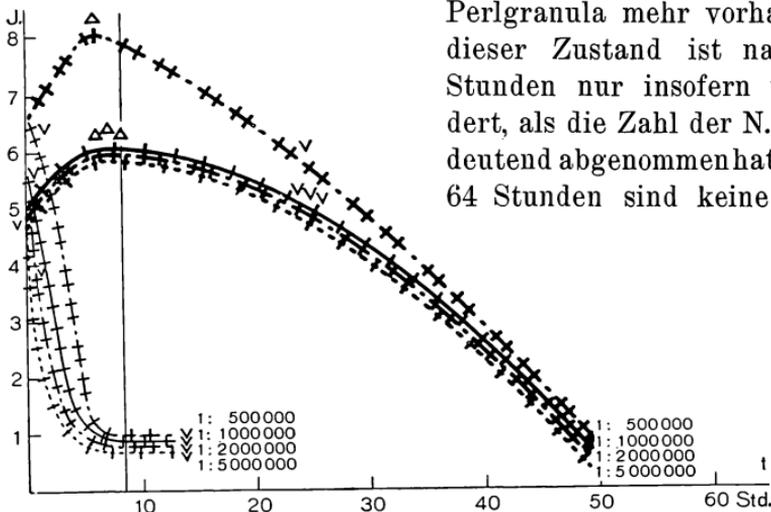


Fig. 30. Abhängigkeit der Färbung von der Ernährung bei *P. caud.* (Fleischextrakt 0,025 Proz., Neutralrot), Tiere in der Farblösung verblieben. Fett gezeichnete Kurven: Tiere in normaler Nährlösung, dünn gezeichnete Kurven: Tiere in verdünnter Nährlösung.

mehr vorhanden, und die Zahl der gefärbten Granula hat sich erheblich verringert, nach 84 Stunden waren alle Tiere farblos. Demgegenüber zeigen die Tiere, die in der weiter verdünnten Fleischextraktlösung (Fl. E.) gehalten wurden (Spalte 4), und von Anfang

an keine N. V. enthielten, den eben betrachteten gegenüber nach 6 Stunden schon geringere Farbintensitäten, besonders bei den schwächeren Konzentrationen. Nach 24 Stunden haben sich die Unterschiede verstärkt, bei der höchsten Konzentration nur noch mittlere Granulafärbung, bei den beiden unteren schon ungefärbte Tiere. Nach 48 Stunden vollends sind alle Tiere ungefärbt¹⁾.

Es zeigt sich also, daß bei normal ernährten Tieren das bei einer bestimmten Konzentration erreichbare Maximum der Färbung (abgesehen von den Perlgranula) solange erhalten bleibt, als N. V. in genügend großer Zahl gebildet werden, daß die Zahl der gefärbten Granula aber abnimmt, sobald die Bildung neuer N. V. nachläßt oder schließlich unterbleibt. Bei den Tieren, die bei Beginn des Versuches schon keine N. V. mehr bilden, wird das den normal ernährten Tieren zukommende Maximum nicht mehr erreicht, die Zahl der gefärbten Granula nimmt in viel stärkerem Maße ab als bei normal ernährten Tieren; zu einer Zeit (48 Stunden), wo bei diesen die höheren Konzentrationen noch Maxima liefern, sind hier schon alle Granula ungefärbt. Dies dürfte wohl am einfachsten so zu erklären sein, daß bei den schlecht ernährten Tieren, nachdem keine N. V. mehr gebildet wurden, die Granula in den Stoffwechsel des Tieres hineingezogen, verbraucht worden sind, und daß dabei der Farbstoff abgebaut worden ist, eine Annahme, die nahe liegt, wenn man diesen Granula Reservestoffcharakter zuschreibt (s. oben).

Die Tabelle 4 für *P. caudatum* zeigt im Prinzip genau dasselbe. (Die Versuche sind natürlich gleichzeitig ausgeführt.) Auch hier sinkt die Zahl der gefärbten Granula, sobald die Bildung der N. V. aufhört, sowohl bei normal ernährten Tieren als auch bei schlecht ernährten im Vergleich zu diesen. Dazu tritt aber hier schon ein erster Unterschied zwischen *P. caudatum* und *P. multimicronucleatum* hervor: zu einer Zeit (24 Stunden), wo *P. multimicronucleatum* noch ausnahmslos in 0,025 Proz. Fleischextraktlösung N. V. bildet, sind bei *P. caudatum* in derselben Lösung schon keine mehr vorhanden, dementsprechend sinkt die Zahl der gefärbten Granula hier früher bis zu Null herab (48 Stunden), und ebenso tritt bei den in der verdünnten Lösung gezüchteten Tieren die völlige Entfärbung (und auch der Tod) erheblich früher ein.

¹⁾ Bei der graphischen Darstellung kommen in den Fällen, wo von vornherein keine N. V. vorhanden sind, die Intensitätsstufen 2—4 natürlich überhaupt nicht vor, im Interesse einer einheitlichen Darstellung durfte aber von der einmal getroffenen graduellen Verteilung der Intensität nicht abgewichen werden; deshalb muß dieser Nachteil hier in Kauf genommen werden.

Zur Erklärung des unterschiedlichen Verhaltens in der N. V.-Bildung der beiden Arten können zwei Möglichkeiten herangezogen werden. Einmal wäre es möglich, daß in der Nährflüssigkeit entstandene zellschädigende Stoffe (siehe unten) lähmend auf die bei der N. V.-Bildung beteiligten Organellen wirken könnten, und daß *P. caudatum* hiervon in stärkerem Maße betroffen würde als *P. multimicronucleatum*, oder aber, daß sich die beiden Arten grundsätzlich hinsichtlich der Fähigkeit, N. V. zu bilden und die damit in einer Kulturflüssigkeit enthaltene Nahrung auszunutzen, unterscheiden würden. Nun läßt sich leicht zeigen, daß zu einer Zeit, wo die Bildung der N. V. aufgehört hat, die Organe nicht nachhaltig geschädigt sind; denn nach Übertragen in ein nahrungsreiches Medium werden sofort N. V. gebildet. Zugunsten der letzten Möglichkeit läßt sich folgender Versuch deuten. Tiere beider Arten werden aus der Kulturflüssigkeit in Leitungswasser gebracht, in welchem sie nach spätestens 3—5 Stunden keine neuen N. V. mehr bilden. Stellt man nach 2—3 Tagen fest, daß die Tiere frei von N. V. sind, so werden sie in neue, nahrungsreiche Kulturflüssigkeit zurückgebracht, und die in einer bestimmten Zeit neugebildeten Vakuolen gezählt¹⁾. Praktisch wurden innerhalb der ersten Stunde abwechselnd bei je einem Tier von *P. multimicronucleatum* und *P. caudatum* die N. V. gezählt und die Zahlen addiert. Als Durchschnittswerte für je zehn Tiere ergaben sich folgende, an verschiedenen Tagen ermittelte, je nach Güte des Nährmediums verschiedene Zahlen.

Tabelle 5.

	<i>P. multimicronucleatum</i>	<i>P. caudatum</i>
26. 9.	12,8	3,9
28. 9.	20,3	11,2
29. 9.	28,4	10,1
5. 10.	7,7	5,1
7. 10.	12,2	5,6
8. 10.	10,6	6,1
9. 10.	9,5	4,2
14. 10.	16,6	3,6
14. 10.	21,0	3,8
15. 10.	11,3	3,6
Mittel	15,4	5,72
=	2,6	1

¹⁾ Dieselbe Methode ist schon von LOSINA-LOSINSKY zur Feststellung des „Einflusses des Nährwertes des Mediums auf die Beziehung der Infusorien zur Nahrung“ angewendet worden. Einzelheiten siehe dort.

Aus der Zusammenstellung geht hervor, daß *P. multimicronucleatum* durchschnittlich in derselben Zeit und derselben Nährlösung mehr als doppelt soviel N. V. bildet als *P. caudatum*. Dieser Versuch spricht zugunsten der zweiten Erklärungsmöglichkeit (vgl. jedoch auch die Versuche über Giftwirkung, siehe unten). *P. multimicronucleatum* kann sehr vielmehr Nahrung in einer bestimmten Zeit aufnehmen, bzw. in einer nahrungsarmen Kulturflüssigkeit länger N. V. bilden, als *P. caudatum*. Es liegt nahe, diesen Unterschied mit dem morphologischen Bau des Cytostoms in beiden Arten in Zusammenhang zu bringen. LANDIS weist darauf hin, daß die Mundbucht von *P. multimicronucleatum* größer ist als bei *P. caudatum* und nach der aboralen Seite hinausgebogen ist: „The curve of the buccal groove is slightly greater and its tip is bent towards the aboral side.“ Es wäre denkbar, daß diese Unterschiede im Bau des Cytostoms die Geschwindigkeit der Nahrungsvakuolenbildung beeinflussen.

Versuchsgruppe 2. Bisher ist bei den Versuchen so verfahren worden, daß die Tiere in der Farblösung verblieben. Es fragt sich jetzt, was geschieht, wenn die Tiere, nachdem das Färbungsmaximum erreicht ist, aus der Farblösung entfernt und in ungefärbte Kulturlösung zurückgebracht werden. Bei solchen Versuchen zeigte es sich zunächst, daß die Färbungsmaxima der beiden Arten zeitlich nicht zusammenfallen, und daß es schwierig ist, festzustellen, wann das Maximum für eine bestimmte Konzentration gerade erreicht ist. Es wurde daher so verfahren, daß die Tiere zu einem Zeitpunkt aus der Farblösung entfernt wurden, wo die Maxima bei höheren Konzentrationen für beide Arten, bei mittleren Konzentrationen wenigstens für eine Art erreicht waren, während sie bei schwachen Konzentrationen schon vor Erreichung der Maxima aus der Lösung entfernt wurden. Nachdem mehrmals ausgewaschen und abzentrifugiert war, wurden die Tiere in eine nicht über 12 Stunden alte Fl. E.-Lösung zurückgebracht.

Die Ergebnisse eines solchen Versuches sind in Tabelle 6 und Textfig. 31 zusammengestellt, und zwar zugleich für beide Arten.

Man ersieht aus dieser Tabelle zunächst, daß viel höhere Farbstoffkonzentrationen verwendet werden können als bei der ersten Versuchsserie. Will man diese Ergebnisse mit denen in den Tabellen 3 und 4 verzeichneten vergleichen, so darf man daher nicht gleiche Konzentrationen miteinander vergleichen, sondern solche Konzentrationen, die dieselben Intensitätsmaxima hervorbringen, also, wie man aus den graphischen Darstellungen am leichtesten sieht, ungefähr 1: 500 000 bei der ersten Versuchsgruppe mit 1: 50 000

Tabelle 6.

Fl. E.-Lösung 0,025 Proz.

Zeit	Konzentrationen	<i>P. multimicronucleatum</i>	<i>P. caudatum</i>
1	2	3	4
15' entf.	50 000	starke Granulafärbung N. V. Perlgranula	starke Granulafärbung N. V. Perlgranula
30' "	100 000	starke Granulafärbung N. V.	mittlere Granulafärbung N. V.
60' "	200 000	mittlere " "	" " "
3 Std. entf.	1 Mill.	schwache " "	schwache " "
5 Std.	100 000	starke Granulafärbung N. V.	mittlere Granulafärbung N. V.
6 "	200 000	schwache " "	ganz schw. " "
7 "	1 Mill.	ungefärbt N. V.	ungefärbt N. V.
15 "	50 000	mittelst. Granulafärbung N. V.	mittlere Granulafärbung N. V.
15 "	100 000	mittlere " "	schwache " "
15 "	200 000	schwache " "	ganz schw. " "
26 "	50 000	mittelst. Granulafärbung N. V.	mittlere Granulafärbung N. V.
26 "	100 000	schwache " "	ungefärbt N. V.
26 "	200 000	ungefärbt N. V.	" "
40 "	50 000	mittelstarke Granulafärbung	mittlere Granulafärbung N. V.
40 "	100 000	ungefärbt N. V.	ungefärbt N. V.
64 "	50 000	mittelst. Granulafärbung N. V.	tot
90 "	50 000	tot	

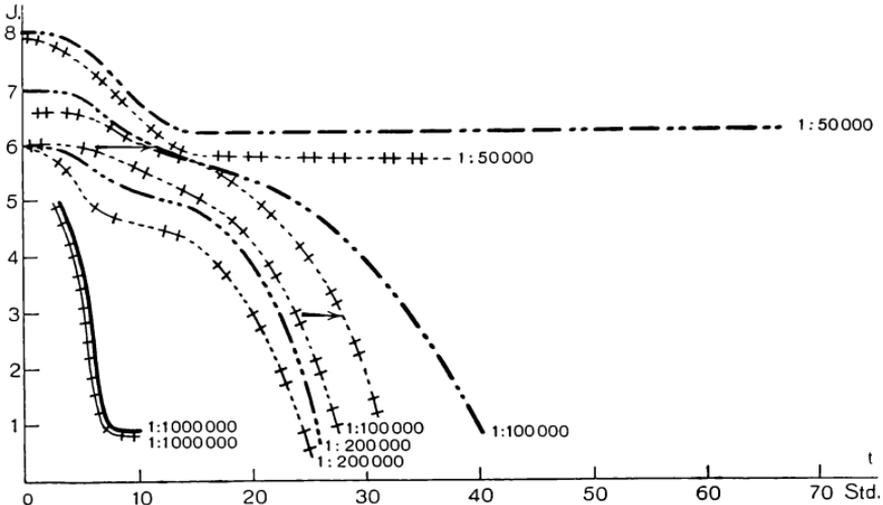


Fig. 31. Färbungskurven bei Entfernung der Tiere aus der Farblösung (Fleisch-extrakt 0,025 Proz., Neutralrot). - - - - Kurven: *P. multi.*, + + + + Kurven: *P. caud.*

bei der zweiten Versuchsgruppe, 1:1 Mill. mit 1:100 000, 1:5 Mill. mit 1:200 000. Man erkennt, daß die Färbungsintensität bei dieser

Versuchsgruppe viel schneller abnimmt als bei dem entsprechenden Versuch der ersten Gruppe, wo die Tiere in der Farblösung verblieben waren; besonders tritt dies beim Vergleich der Textfig. 29 u. 31 für *P. multimicronucleatum* (normal ernährte Tiere) zutage. Daß hier nach 15 Stunden noch gefärbte N. V. zu sehen sind, kann erstens daran liegen, daß beim Zentrifugieren und Auswaschen gefärbte Nahrungspartikel an den Tieren hängengeblieben sind, die dann nachher eingestrudelt wurden; bei den höheren Konzentrationen ist aber auch daran zu denken, daß die kleinen Granula, die bei der Ablösung der N. V. in diese eindringen, für die Färbung verantwortlich zu machen sind. In allen diesen Fällen handelt es sich auch immer nur um eine schwache Färbung der Nahrungsballen. Vergleicht man die Färbungsintensitäten bei *P. multimicronucleatum* und *P. caudatum*, so findet man, daß die Intensitäten bei *P. multimicronucleatum* größer sind, daß die Kurven für *P. multimicronucleatum* über denen von *P. caudatum* liegen (Textfig. 31). Berücksichtigen muß man aber dabei, daß die Ausgangsintensitäten bei der Entfernung aus der Farbe für *P. multimicronucleatum* auch schon bedeutend höher liegen als bei *P. caudatum*. Subtrahiert man diese Differenz, indem man z. B. bei den Konzentrationen 1:100 000 den Anfangspunkt der + + + + +-Kurve parallel zur Abszisse bis zum Schnittpunkt mit der — — — — —-Kurve verschiebt (durch Pfeile angedeutet), so sieht man, wie der Abstand der beiden Kurven im Verhältnis zu der ersten Lage sehr viel enger geworden ist. Die anderen Kurven gleicher Konzentration, bei denen die Ausgangsintensitäten gleich sind, liegen schon ohnehin sehr nahe zusammen. Man kommt also hier zu dem Schluß, daß die Entfärbung von *P. multimicronucleatum* und *P. caudatum* nach der Entfernung aus der Farblösung in übereinstimmender Weise erfolgt.

Wie kommt nun in diesem Falle die Entfärbung der Granula zustande, und welche Zusammenhänge bestehen mit dem Ablauf der Stoffwechselfvorgänge? Wir hatten bei der ersten Versuchsreihe gesehen, daß eine Verminderung der Zahl der Granula einsetzt, sobald keine neuen N. V. mehr gebildet werden, sobald also die Zahl der neu entstehenden Granula verschwindend klein gegen die der verbrauchten Granula ist. Hier liegen die Verhältnisse komplizierter. Es werden hier dauernd N. V. gebildet, also darf man annehmen, daß auch dauernd neue Granula entstehen. Daneben müssen auch immerfort Granula verbraucht werden, denn sonst könnte die Zahl der gefärbten Granula nicht abnehmen. Was wir beobachten können, ist in beiden Fällen das Abnehmen der Zahl der gefärbten Granula.

Bei dieser Versuchsgruppe beginnt diese Abnahme, sobald die Tiere aus der Farblösung entfernt werden, da dann keine neuen gefärbten Granula mehr gebildet werden können; bei der ersten Versuchsgruppe aber beginnt diese Abnahme, sobald keine N. V. mehr gebildet werden. Daher sind die Kurvenscharen der Textfig. 29 u. 30 erst von diesem Zeitpunkt an mit denen der Textfig. 31 vergleichbar, es müssen also in den Textfig. 29 u. 30 neue Ordinaten eingeführt werden, die in den beiden Textfiguren durch die senkrechten Geraden angedeutet sind. Sie schneiden die Abszisse an der Zeitmarke, zu der bei den betreffenden Konzentrationen zuletzt N. V. beobachtet worden sind; zum Vergleich benutzt werden also nur die abfallenden Teile der Kurven. Dabei muß die Ordinate der Textfig. 31 nur ganz wenig nach rechts verschoben werden, da die Entfernung aus der Farblösung ja schon kurz nach Beginn des Versuchs erfolgte. Durch einen Vergleich der Textfig. 29 u. 30 mit Textfig. 31 erkennt man, daß die Kurven für beide Arten in beiden Versuchsreihen ganz ähnlich verlaufen, daß also die Geschwindigkeit der Abnahme der gefärbten Granula bei beiden Versuchsgruppen ungefähr dieselbe ist. Damit ergibt sich die gleiche Abhängigkeit der Zahl der gefärbten Granula von den Ernährungsbedingungen: in beiden Fällen beginnt diese Abnahme, sobald die Bildung gefärbter N. V. unterbleibt; hervorgerufen wird dies in beiden Fällen auf ganz verschiedene Weise: bei der ersten Versuchsgruppe durch Nahrungsmangel, bei der zweiten Versuchsgruppe durch Zufuhr reichlicher Nahrung nach der Entfernung aus der Farblösung. Natürlich können aus dieser Übereinstimmung keine Schlüsse auf die Geschwindigkeit der Granulaentstehung und -Auflösung bei normal und unternormal ernährten Tieren gezogen werden, denn die gefärbten stellen ja nur einen Teil des Gesamtbestandes der Zelle an Granula dar, und über die zahlenmäßige Veränderung ungefärbter Granula läßt sich bisher noch nichts aussagen.

Es bleibt noch festzustellen, wie die Geschwindigkeit der Abnahme der gefärbten Granula von dem Nahrungsreichtum der verwendeten Kulturflüssigkeit abhängt. Man muß erwarten, daß die Entfärbung um so schneller erfolgt, je nahrungshaltiger die Kulturflüssigkeit ist. Es wurden Tiere, die starke Granulafärbung zeigten, aus einer Heulösung entfernt und ein Teil in dieselbe, aber ungefärbte Heulösung, ein anderer Teil in Leitungswasser gebracht. Tabelle 7 zeigt das Ergebnis, das den gestellten Erwartungen entspricht.

Tabelle 7.

P. multimicronucleatum.

Zeit	Leitungswasser	Kulturflüssigkeit
Zu Beginn	starke Granulafärbung N. V.	starke Granulafärbung N. V.
7 Std.	mittelstarke „ wenig N. V.	mittelstarke „ „
20 „	„ „ „ „	ganz schw. „ „
48 „	„ „ „ „	„ „ „ „
72 „	mittlere „ keine „	farblos N. V. „ „

Während die in die Heulösung gebrachten Tiere nach 72 Stunden farblos waren, zeigten die in Leitungswasser gebrachten noch eine mittlere Granulafärbung.

Es sei noch ein Beispiel angeführt, bei dem die geschilderte Abhängigkeit besonders schön und einwandfrei zum Ausdruck kommt: in der Färbung von Exconjuganten und Conjugationspärchen. Bekanntlich wird während der Conjugation von den conjugierenden Partnern keine Nahrung aufgenommen, vorhandene Nahrung, wie sich leicht durch einen Färbungsversuch feststellen läßt, innerhalb der ersten Stunden vollständig verdaut. Exconjuganten hingegen nehmen nach Wiederherstellung des Cytostoms Nahrung in reichlicherem Maße auf, als normale, nicht conjugierende Tiere. Daher rühren auch die bedeutenden Größenunterschiede zwischen Exconjuganten und normalen Tieren. Zum Versuch verwendet wurde *P. multimicronucleatum* wegen seiner größeren Neigung zur Conjugation. Aus drei Heukulturen, in denen Conjugation aufgetreten war, wurden bei Beginn derselben jeweils Conjugationspärchen und Nichtconjuganten isoliert. Während der Dauer der Conjugation wurden aus den Näpfchen, die Pärchen enthielten (A) in den ersten 6 Stunden alle Einzeltiere entfernt, aus dem Näpfchen mit Nichtconjuganten (B) alle auftretenden Conjugationspärchen. Wenn sich in dem Näpfchen A eine größere Menge von Exconjuganten gegen Ende der Conjugation angesammelt hatte, wurden diese gleichzeitig mit Tieren aus dem Näpfchen B mit N. R. 1:100 000 eine halbe Stunde gefärbt, so daß sie starke Granulafärbung aufwiesen, dann mehrmals ausgewaschen und in aus der Stammkultur abfiltrierte Kulturlösung zurückgebracht. Eine Beobachtung nach 10 Stunden zeigte, daß die auch an dem Kernbild erkennbaren Exconjuganten sehr schwache bis schwache Granulafärbung, ungefärbte N. V., die normalen Tiere mittelstarke Granulafärbung, ungefärbte N. V. aufwiesen. Dieser einfache Versuch zeigt also unmittelbar, wie bei den Exconjuganten, die mehr Nahrung aufgenommen haben, die Zahl der

gefärbten Granula sehr viel rascher abgenommen hat, als bei Tieren, deren Nahrungsaufnahme in normalen Grenzen verlief.

Zusammenfassend läßt sich also über die Abhängigkeit der Granulafärbung von der Ernährung sagen, daß bei beiden Arten die Zahl der gefärbten Granula abnimmt, und damit eine Änderung des Färbungsbildes eintritt, sobald die Bildung von gefärbten N.V. aufhört. Die beiden Arten unterscheiden sich darin, daß *P. multimicronucleatum* in einer gegebenen Kulturflüssigkeit längere Zeit N.V. zu bilden und die Nahrungsquelle besser auszunutzen vermag als *P. caudatum*, ein Unterschied, der möglicherweise auf morphologischen Eigentümlichkeiten des Cytostoms beruht. Wir sahen, daß der Einfluß der Ernährung sich besonders bei der Entfärbung geltend macht; wir werden im folgenden Abschnitt die Wasserstoffionenkonzentration als einen Faktor kennenlernen, der die Anfärbung weitgehend beeinflußt.

β) Abhängigkeit der Färbung von der Wasserstoffionenkonzentration (p_H).

Nach den Untersuchungen von BETHE, ENDLER, RUMJANTZEW und KEDROWSKY u. a. steht die Abhängigkeit der Färbung vom p_H außer Zweifel, dabei erhöht eine wachsende Alkalität der Außenlösung die Aufnahmefähigkeit für basische Farbstoffe. Es blieb daher nur zu untersuchen, ob diese Abhängigkeit innerhalb des Versuchsbereichs von Bedeutung war, und beim Vergleich der Färbbarkeit von *P. multimicronucleatum* und *P. caudatum* zu berücksichtigen ist. Zu diesem Zwecke wurde zunächst das p_H in Heukulturen verschiedenen Alters gemessen. BODINE (1921) hat den Verlauf der p_H -Kurven in Infusorien-Kulturen gemessen und festgestellt, daß diese zuerst sauer und später alkalisch reagieren. Ich kann diese Ergebnisse bestätigen¹⁾. In Tabelle 8 sind für diejenigen zwölf Paramäcien-Kulturen, in denen die Tiere in der größten Dichte vorhanden waren, die p_H -Werte zu verschiedenen Zeiten eingetragen. Die erste Messung erfolgte, wenn die Kulturen schon gut blühten; das war meist 3 Wochen nach der Übertragung einer geringen Menge von Tieren in eine 6—8 Tage alte Heulösung der Fall.

Die Tabelle zeigt, daß die Kulturen im Anfang schwach sauer, dann mehr und mehr alkalisch reagieren, und zwar bevorzugt *P. multimicronucleatum* ein schwach saures Medium, das häufig erst

¹⁾ Die p_H -Messungen wurden ausgeführt mit dem Doppelkeilkalorimeter nach BJERRUM-ARRHENIUS.

Tabelle 8.

Nr.	Art	Kult.	angesetzt	pH am			
				11. 2.	29. 6.	19. 9.	5. 11.
1	<i>P. multimicronucleatum</i>	22	20. 1. 1931	6,60	7,60	7,80	8,05
2		51	"	6,25	6,72	7,56	7,90
3	"	52	"	6,25	6,90	7,56	7,80
4	"	77	15. 4. 1931	—	7,42	7,30	7,90
5	"	78	1. 5. 1931	—	6,97	7,15	7,70
6	"	79	"	—	7,12	7,17	7,70
7	"	80	"	—	7,08	7,77	7,80
8	<i>P. caudatum</i>	10	10. 10. 1930	7,37	7,95	—	—
9		25	20. 1. 1931	7,05	7,41	7,62	8,00
10	"	60	1. 5. 1931	—	7,55	7,72	7,90
11	"	61	"	—	7,28	7,67	7,90
12	"	63	"	—	7,42	7,72	7,90

Temperatur 18—20°.

nach mehreren Monaten alkalisch wird, während die besten Kulturen von *P. caudatum* solche sind, die schon nach kurzer Zeit alkalisch reagieren. In sauren Kulturen habe ich *P. caudatum* nicht längere Zeit in größeren Mengen halten können, andererseits verträgt *P. multimicronucleatum* pH-Werte von acht ohne Schaden. Das Intervall der Wasserstoffionenkonzentration, in dem die Tiere am besten leben können, ist also für *P. multimicronucleatum* bedeutend größer als für *P. caudatum*.

Da bei den Färbeversuchen mit Kulturlösungen, die aus Heukulturen abgefüllt waren, gearbeitet wurde, war es von Interesse, den Verlauf der pH-Werte in solchen abgefüllten Kulturen innerhalb der Färbezeit festzustellen; desgleichen den Verlauf bei Fl. E.-Kulturen.

Tabelle 9.

Art	Kult.-Nr.		Alter der Kult.	pH nach						
				bei Beg.	1. Tag	2. Tag	3. Tag	4. Tag	7. Tag	
<i>P. mult.</i>	51	u.	5 Mon.	6,74	7,75	8,55	8,45	8,50	8,70	
	51	b.	5 "	6,74	7,62	8,55	8,60	8,50	8,70	
	80	u.	2 "	7,40	7,90	8,85	8,87	8,80	—	
<i>P. caud.</i>	80	b.	2 "	7,40	7,90	8,85	8,85	8,80	—	
	25	u.	5 "	7,45	7,90	8,80	8,80	8,80	9,20	
	25	b.	5 "	7,45	7,90	8,80	8,80	8,75	9,20	
	63	u.	2 "	7,45	7,90	8,80	8,80	8,60	—	
	63	b.	2 "	7,45	7,90	8,80	8,80	8,60	—	
	Gehalt an NH ₃		u.		0,0032 ‰	0,0030 ‰	0,0033 ‰	—	0,0035 ‰	—
		b.		0,0030 ‰	0,0023 ‰	0,0028 ‰	—	0,0035 ‰	—	

u. = unbewohnt, b. = bewohnt.

Tabelle 10.

Fl. E.-Lösung 0,025 %, 6 Stunden alt.

Art	Kult.- Nr.		pH nach					
			bei Beg.	1. Tag	2. Tag	3. Tag	4. Tag	5. Tag
Fl. E.	—	u.	7,05	7,45	7,38	7,45	7,50	7,50
<i>P. mult.</i>	80	b.	7,42	8,00	7,86	7,72	7,88	8,40
"	51	b.	7,42	7,85	7,93	7,85	7,88	8,80
<i>P. caud.</i>	60	b.	7,42	8,12	8,08	7,85	7,80	8,90
"	63	b.	7,42	8,00	8,10	8,04	8,03	8,80
Gehalt an NH ₃	}	u.	—	0,0024 ‰	0,0020 ‰	0,0018 ‰	0,0018 ‰	0,0018 ‰
		b.	0,0021 ‰	0,0026 ‰	0,0033 ‰	0,0030 ‰	0,0033 ‰	0,0023 ‰

u. = unbewohnt, b. = bewohnt.

Die Temperaturen wurden bei jeder p_H-Messung natürlich auch gemessen, konnten aber aus Platzmangel in den Tabellen nicht vermerkt werden; die Schwankungen sind gering.

Dabei wurde darauf geachtet, ob zwischen Kulturlösungen, aus denen die Tiere entfernt, und solchen, die bewohnt waren, Unterschiede bestehen, wie dies von BODINE angegeben wird. In Textfig. 32 u. 33 sind die Ergebnisse graphisch dargestellt. Textfig. 32 zeigt, daß bei abgefüllten Heulösungen (die verschlossen gehalten wurden) innerhalb der ersten 2 Tage ein steiler Anstieg der p_H-Werte von 6,7—8,8 bei Kulturen von *P. multimicronucleatum*, von 7,4—8,8 bei solchen von *P. caudatum* erfolgt. Der Wert von 8,8 stellt dabei einen oberen Grenzwert dar, der nur selten noch überschritten wird. Höchstens nach 6—7 Tagen tritt noch eine kleine Steigerung ein. Ein Unterschied zwischen unbewohnten und bewohnten ließ sich dabei nicht feststellen. Textfig. 33 zeigt einen ähnlichen Anstieg der p_H-Werte bei Fl. E.-Kulturen. Hier erfolgt der Anstieg in zwei Etappen, innerhalb des 1. Tages etwa bis 8,0, dann vom 4. Tage ab bis zu Werten von 8,8. Werte von 8,8 und darüber werden von den Tieren nicht längere Zeit hindurch ertragen, nach wenigen Tagen läßt sich schon eine Verlangsamung der Bewegung erkennen. In unbewohnten Fl. E.-Kulturen ist nur ein geringer Anstieg des p_H-Wertes (von 7,05—7,50) zu beobachten; höhere Werte wurden auch nach längerer Zeit nicht erreicht. Um die Ursache der p_H-Steigerung zu erkennen, wurde eine Analyse der Lösungen vorgenommen und es zeigte sich, daß das Auftreten von Ammoniak als eine Ursache der p_H-Steigerung anzusehen war.

Ammoniakanalyse. 200 cm³ Kulturflüssigkeit wurden in einem ERLLENMEYER-Kolben auf 60° erwärmt, sodann durch eine Waschflasche

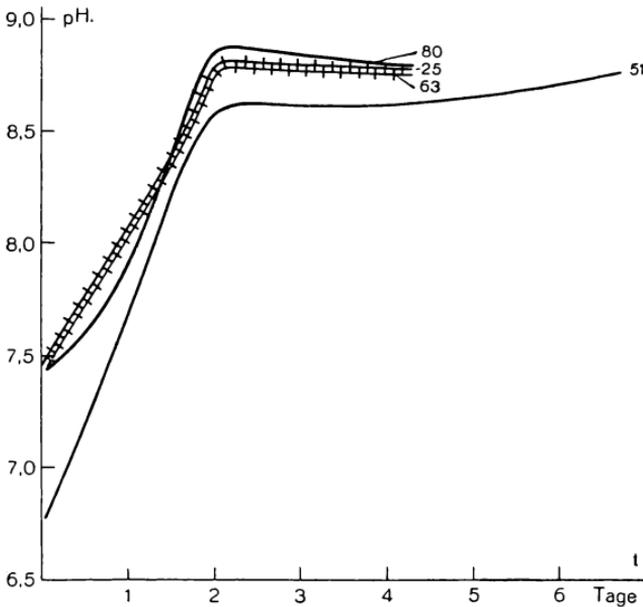


Fig. 32. pH-Werte bei abgefüllten Heukulturen.

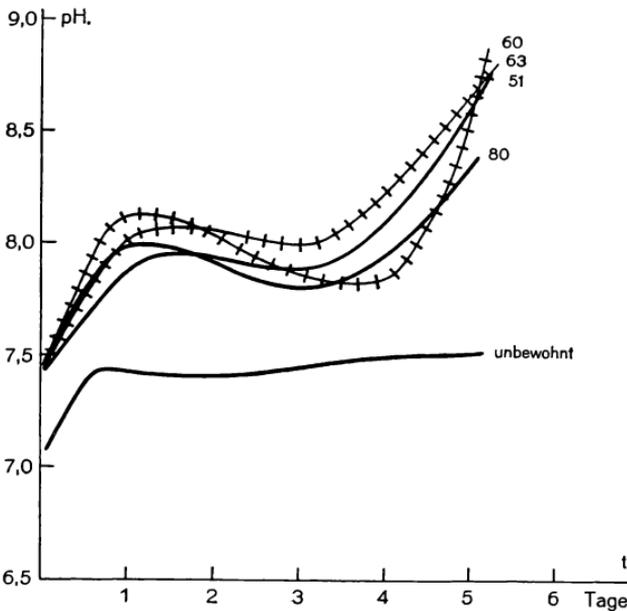


Fig. 33. pH-Werte bei Fleischextraktkulturen (0,025 Proz.).

mit ziemlich konzentrierter Schwefelsäure ammoniakfreie Luft zugeleitet, und der freie Ammoniak in $\frac{n}{100}$ HCl angefangen. Durch Titrieren mit $\frac{n}{100}$ NaOH wurde die Menge von NH₄OH festgestellt, und der Gehalt in der Kulturlösung in Prozenten ausgedrückt. Die Ergebnisse sind unter den Tabellen 9 u. 10 vermerkt.

Es liegt nahe, für das Auftreten von Ammoniak die Bakterienflora in den Kulturen verantwortlich zu machen. Es zeigt sich auch an Ausstrichpräparaten, die mit Methylblau gefärbt, oder als Negativpräparate mit schwarzer Tusche hergestellt wurden, daß die größte Dichte der Bakterienflora zeitlich mit dem Maximum der Ammoniakproduktion zusammenfällt. Die Anwesenheit größerer Ammoniakmengen in bewohnten Fl. E.-Kulturen gegenüber unbe-

wohnten kann einmal auf direkter NH_3 -Produktion der Paramäcien oder aber auf der Anwesenheit von solchen Bakterien beruhen, die die von den Infusorien abgeschiedenen, stickstoffhaltigen Exkretstoffe zu NH_3 abbauen. Daß bei bewohnten und unbewohnten abfiltrierten Heukulturen keine wesentlichen Unterschiede hervortreten, dürfte wohl in der Anwesenheit von zahlreichen Colpidien, die in den unbewohnten, abfiltrierten Heukulturen vorhanden waren, zu suchen sein. Wie oben schon angeführt wurde, bieten die Fl. E.-Kulturen den Paramäcien nur kurze Zeit ein günstiges Nährmedium. Die größte Dichte zeigen solche Kulturen vom 4.—7. Tag (größter Reichtum an Bakterien), nach dieser Zeit nimmt die Zahl der Paramäcien sowie die der Bakterien sehr rasch ab. Dürfte so die Verminderung der Zahl der Tiere einmal auf Nahrungsmangel beruhen, so ist andererseits eine schädliche Wirkung des NH_3 nicht zu verkennen. Untersucht man durch Zugabe von NH_3 zu frisch bereiteter Kulturlösung den schädlichen Einfluß dieses Giftes, so findet man (Methode s. u.), daß ein Gehalt von 0,0035 % NH_3 , wie er normalerweise in den Fl. E.-Kulturen vorkommt, von beiden Arten nicht längere Zeit ohne Schaden vertragen wird.

Zu ähnlichen Resultaten bezüglich der summierenden Wirkung von Nahrungsmangel und Exkretstoffen in abgefüllten Nährlösungen im Alter von 3—8 Tagen sind auch WOODRUFF (1912), FINE und MYERS gekommen, wenn auch eine exakte Analyse der durch die Anwesenheit der Bakterien geschaffenen Verhältnisse noch nicht möglich war.

Man darf aus den bisherigen Versuchen schon schließen, daß die h-Konzentration, da sie so hohen Schwankungen unterworfen ist, auf die Färbungsergebnisse den allergrößten Einfluß haben wird, und daß nur bei Lösungen von gleichem p_H die Farbwirkungen verglichen werden dürfen. Es soll deshalb die Änderung des p_H innerhalb eines kleinen Bereichs auf die Färbewirkung untersucht werden. Dabei wurde das p_H zunächst ohne eine Pufferlösung durch Zugabe einiger Tropfen verdünnter Essigsäure oder Natronlauge verändert; das sich einstellende p_H wurde in jedem Falle empirisch bestimmt. Tabelle 11 und Textfig. 34 stellen das Ergebnis eines solchen Versuchs für *P. multimicronucleatum* dar. Eine abgefüllte Heulösung, die ein p_H von 7,0 aufwies, wurde mit einer aus derselben Mutterkultur stammenden (gleiche Ernährungsbedingungen!), die durch Zugabe von drei Tropfen pro Kubikzentimeter NaOH auf ein p_H von 7,3 gebracht war, hinsichtlich des Färbeergebnisses bei gleichen Konzentrationen verglichen. Die Betrachtung der Kurven der Textfig. 34

Tabelle 11.
P. multimicronucleatum

Zeit	Konz.	Färbung bei	
		pH = 7,0 3	pH = 7,3 4
1	2		
30'	200 000	mittlere Gr. Fg. N. V.	mittlere Gr. Fg. N. V.
55'	500 000	stark gefärbte N. V.	schwache " " "
75'	2 Mill.	schwach " "	stark gefärbte N. V.
80'	10 "	" " "	schwach " "
5 St.	200 000	starke Gr. Fg. N. V.	starke Gr. Fg. N. V. Perlgr.
5 "	500 000	mittelstarke Gr. Fg. N. V.	" " gefärbte N. V.
6 "	2 Mill.	stark gefärbte N. V.	" " "
6 "	10 "	schwach gefärbte N. V.	" " "
24 St.	200 000	starke Gr. Fg. N. V.	starke Gr. Fg. N. V.
24 "	500 000	mittelstarke Gr. Fg. N. V.	mittlere " "
24 "	2 Mill.	sehr schwach gefärbte N. V.	sehr schwach gefärbte N. V.
24 "	10 "	ungefärbt	ungefärbt
48 St.	200 000	starke Gr. Fg. N. V.	starke Gr. Fg. N. V.
48 "	500 000	" " "	ungefärbt, " keine N. V.
48 "	2 Mill.	ungefärbt, " keine N. V.	ungefärbt, " keine N. V.
3 Tg.	200 000	starke Gr. Fg. N. V.	starke Gr. Fg. N. V.
3 "	500 000	" " "	" " "
4 Tg.	200 000	starke Gr. Fg. N. V. viele tot	starke Gr. Fg. N. V. viele tot
4 "	500 000	starke Gr. Fg. N. V.	starke Gr. Fg. N. V.
5 Tg.	500 000	mittlere Gr. Fg. N. V.	mittlere Gr. Fg. N. V.
		pH = 8,98	pH = 9,13

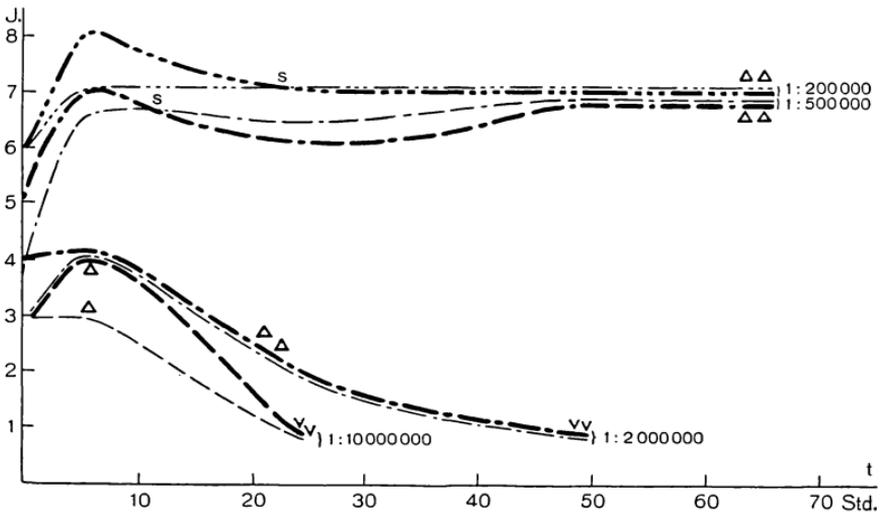


Fig. 34. Abhängigkeit der Färbung von der Wasserstoffionenkonzentration (Heukulturen, Neutralrot). Dünn gezeichnete Kurven: pH = 7,0, fett gezeichnete Kurven: pH = 7,3.

zeigt, daß bei der Anfärbung die Intensitätskurven höheren p_H 's ausnahmslos höher liegen als die niederen p_H 's, und zwar um gut meßbare Beträge. Im weiteren Verlauf tritt eine Annäherung der zugehörigen Kurven ein, bei denen höherer Konzentration eine Überschneidung (S). Da es sich um eine ungepufferte Lösung handelt, kann über die p_H -Werte zu jedem Zeitpunkt der Färbung nichts ausgesagt werden, immerhin lassen die erreichten Endwerte 8,98 bzw. 9,13 sowie die große Regelmäßigkeit im Verlauf der Kurven die Erwartung zu, daß nicht gerade eine Umkehr in der Anordnung der p_H -Kurven bezüglich ihres Anfangswertes eingetreten ist. Für die Anfärbung (ungefähr bis zu 6 Stunden) ist dies ganz sicher nicht zu erwarten, und es kann somit aus der Lage dieser Kurven geschlossen werden, daß die zu erwartende Gesetzmäßigkeit, Proportionalität von Färbungsgrad und Alkalität, auch für kleine Differenzen der p_H -Werte gültig und meßbar ist.

Es wird also bei einem Vergleich der Farbwirkung bei *P. caudatum* und *P. multimicronucleatum* darauf zu achten sein, daß neben gleichen Ernährungsbedingungen auch eine Gleichheit des p_H vorhanden ist.

Es sei nachträglich noch auf einen Punkt hingewiesen, den STRELNIKOW zum Gegenstand einer Untersuchung gemacht hat, nämlich den Vorgang der Reduktion des Farbstoffes bei Infusorien. Wir hatten ja gesehen, daß die Zahl der gefärbten Granula, sowohl, wenn die Tiere in der Farbstofflösung verbleiben als auch, wenn sie daraus entfernt werden, abnimmt. Der letzte Fall liegt insofern einfacher, als der Abbau des Farbstoffes ohne Anwesenheit weiterer Farbstofflösung vor sich geht; wie aber ist es im ersten Falle, ist von dem Augenblick an, wo der Abbau der gefärbten Granula beginnt, kein Farbstoff mehr in der Lösung vorhanden, oder ist das doch der Fall? STRELNIKOW glaubt, bei Versuchen mit Methylenblau, das letztere annehmen zu dürfen. Er stellt fest, daß die Infusorien sich nach einigen Tagen bei einer Konzentration, bei der sie es vorher taten, nicht mehr färbten, wohl aber in stärkeren Konzentrationen. Bringt er dagegen ungefärbte Paramäcien in eine solche Lösung, so nehmen sie sofort Farbe an. Andererseits färben sich Tiere, die in einer Farblösung nach einigen Tagen ungefärbt sind, sofort, wenn sie in eine farblose Kulturlösung von gleichem p_H gebracht werden. STRELNIKOW gelangt auf Grund dieser Versuche zu der Annahme, daß eine Oxydation und eine Rekonstitution des Farbstoffes unter Bildung von Leukoverbindungen vor sich geht. Bei N. R. verlaufen, wie auch theoretisch zu erwarten ist, beide

Versuche negativ, man darf also annehmen, daß zu der Zeit, wo sich die Paramácien in einer Lösung entfärbt haben, kein Farbstoff mehr in dieser vorhanden ist.

γ) Wir kommen nun zum endgültigen Vergleich zwischen den Färbewirkungen bei *P. multimicronucleatum* und *P. caudatum*, nachdem wir festgestellt haben, daß hierbei Gleichheit von Ernährungsbedingungen und Wasserstoffionenkonzentration notwendig ist. Die Abhängigkeit der Färbung von der Temperatur ist nicht besonders festgestellt worden, da diese während eines Versuchs, der immer bei beiden Arten gleichzeitig begonnen wurde, ziemlich konstant war, vorhandene Schwankungen aber beide Arten in gleicher Weise betrafen. Zunächst sei ein solcher Vergleich mit einer gepufferten Lösung durchgeführt. Für unseren p_H-Bereich kam ein Puffer aus primärem und sekundärem Phosphat in Frage. Bei diesem Puffer hängt der Dissoziationszustand des zweiwertigen Phosphates ziemlich stark von seiner Verdünnung ab (MICHAELIS, p. 39). Es mußte also zunächst der Einfluß dieser Verdünnung gemessen werden. Bei einem Verhältnis von $\frac{\text{prim. Phosphat}}{\text{sek. Phosphat}} = 1 : 8$ ergaben sich folgende p_H-Werte bei Verdünnung mit Leitungswasser:

Tabelle 12.

1 Teil Puffer zu Teil. Wasser	p _H
1 : 2	8,05
1 : 4	7,93
1 : 10	7,80
1 : 20	7,50
1 : 40	7,50
1 : 100	7,50

Tabelle 13.

Gesamt- verd.	p _H		
	bei Beg. ohne Puffer	nach 40 Std.	
1 : 5	7,9	8,01	tot
1 : 10	7,9	7,90	leb.
1 : 20	7,9	7,80	"
1 : 40	7,9	7,50	"
1 : 100	7,9	7,50	"

Nunmehr wurde die Pufferwirkung bei diesen Verdünnungen bei demselben Verhältnis 1 : 8 an Fl. E.-Kulturen gemessen (Tabelle 13). Die Tabelle zeigt, daß die p_H-Werte bei den einzelnen Verdünnungen, wie sie nach Tabelle 12 zu erwarten waren, bei einer Beobachtung nach 40 Stunden ziemlich gut mit diesen übereinstimmen. Die Verdünnung 1 : 5 erweist sich als schädlich für die Tiere, die nächste 1 : 10 weist die geringste Schwankung auf; da die Tiere in dieser Lösung auch noch nach einigen Tagen keine Schädigungen aufwiesen, erwies sich diese Verdünnung als am geeignetsten. Es sei aber hier auf einen grundsätzlichen Nachteil bei der Verwendung von Pufferlösungen zu Färberversuchen aufmerksam gemacht: d. i. der

Einfluß der Salze auf die Färbewirkung und auf das Plasma. Auch bei Verwendung größerer Verdünnungen als 1 : 10 tritt häufig die schon öfters erwähnte Vakuolisierung des Plasmas auf, wenn auch meistens nur für kurze Zeit und ohne die Tiere sichtbar zu schädigen.

In Tabelle 14 und Textfig. 35 sind nunmehr die Ergebnisse eines Versuchs mit gepufferter Lösung mitgeteilt. Das Verhältnis

Tabelle 14.

Zeit	Konzentrationen	<i>P. multimicronucleatum</i>	<i>P. caudatum</i>
1	2	3	4
10'	200 000	mittelst. Granulafärbung N. V. Perlgranula	mittlere Granulafärbung N. V.
20'	500 000	mittlere Granulafärbung N. V.	schwache Granulafärbung "
1 Std.	1 Mill.	stark gefärbte N. V.	schwach gefärbte "
1 "	10 "	schwach gefärbte N. V.	" " "
24 Std.	200 000	starke Granulafärbung N. V. Perlgranula	starke Granulafärbung N. V.
24 "	500 000	mittlere Granulafärbung N. V.	mittelst. " "
24 "	1 Mill.	schwache " "	schw.-mittl. "Granulaf. N." V.
24 "	10 "	ungefärbt, keine N. V.	ungefärbt, keine N. V.
2 Tage	200 000	tot	tot
2 "	500 000	mittlere Granulafärbung N. V.	schwache Granulaf. N. V.
2 "	1 Mill.	" " "	" " "
3 Tage	500 000	tot	tot
3 "	1 Mill.	schw.-mittl. Granulafärbung	schwach gefärbte N. V.
4 Tage	1 Mill.	ungefärbt, keine N. V.	schwach gefärbte N. V.

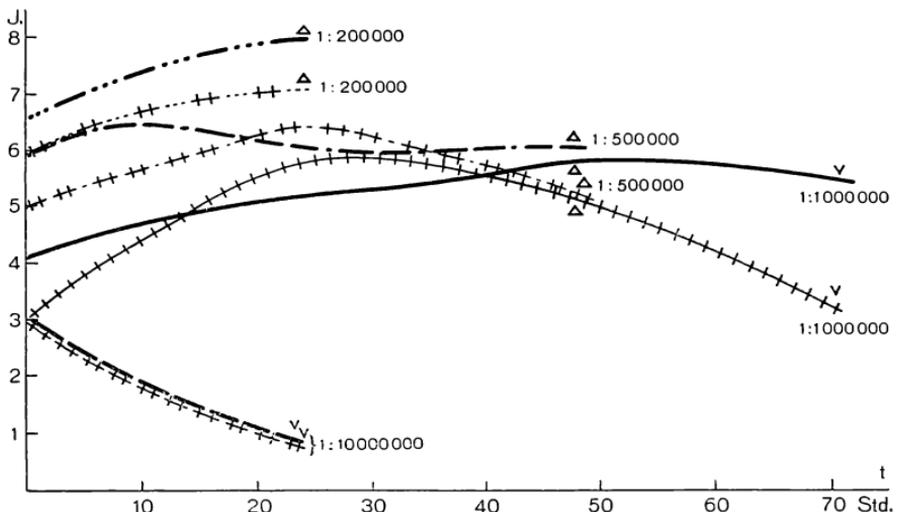


Fig. 35. Färbungskurven bei *P. caud.* und *P. multi.* (Neutralrot). - - - - Kurven: *P. multi.*, + + + + Kurven: *P. caud.* (Fleischextrakt 0,025 Proz.; gepufferter Kulturlösung pH = 7,75).

prim. Phosphat
sek. Phosphat war 1:8, die Verdünnung 1:10. Der nach Hinzugebung des Puffers zu der Kulturlösung gemessene p_H -Wert war 7,75. Es sei gleich die Tabelle 15 und Textfig. 36 angeschlossen, die einen anderen Versuch mit einer ungepufferten Lösung darstellen.

Tabelle 15.

Zeit 1	Konzentrationen 2	$p_H = 8,02$	
		<i>P. multimicronucleatum</i> 3	<i>P. caudatum</i> 4
40'	500 000	mittelst. Granulafärbung N. V.	mittlere Granulafärbung N. V.
50'	1 Mill.	" " "	" " "
60'	2 "	" " "	" " "
70'	10 "	starke " "	" " "
6 Std.	500 000	starke Granulafärbung Perlgr.	starke Granulafärbung Perlgr.
6 "	1 Mill.	" " N. V.	mittlere " N. V.
6 "	2 "	" " "	schwache " keine N. V.
6 "	10 "	mittlere " "	ungefärbt, " keine N. V.
24 Std.	500 000	mittlere Granulafärbung N. V.	schw. Granulaf. keine N. V.
24 "	1 Mill.	" " "	" " "
24 "	2 "	" " "	sehr schw. "Granulaf." k. N. V.
24 "	10 "	" " "	ungefärbt
2 Tage	500 000	schw.-mittl. Granulafärbung	sehr schw. Granulaf. k. N. V.
2 "	1 Mill.	mittlere Granulafärbung N. V.	stark gefärbte N. V.
2 "	2 "	stark gefärbte N. V.	schwach " "
2 "	10 "	mittlere Granulafärbung N. V.	ungefärbt
3 Tage	2 Mill.	schw. Granulaf. keine N. V.	N. V. stark gefärbt
3 "	10 "	mittlere " " "	ungefärbt, keine N. V.

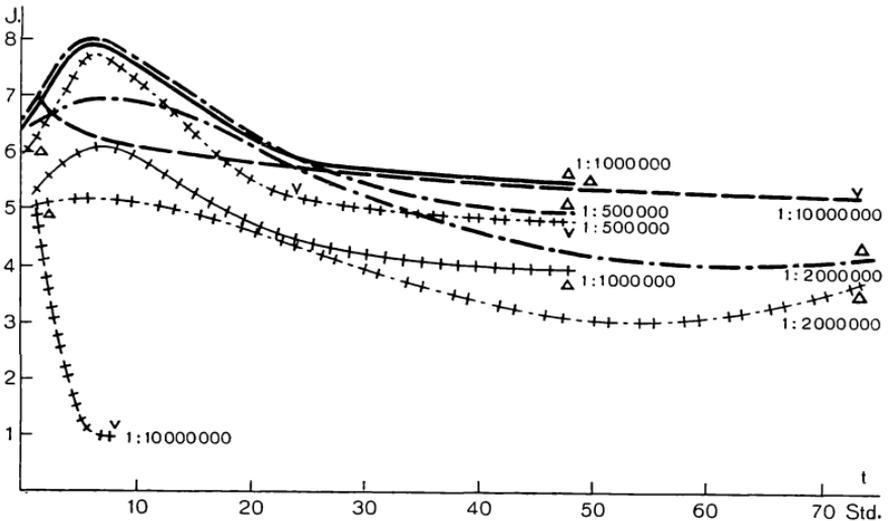


Fig. 36. Färbungskurven bei *P. caud.* und *P. multi.* (Neutralrot). - - - - Kurven: *P. multi.*, + + + + Kurven: *P. caud.* (Fleischextrakt 0,025 Proz., ungepufferte Lösung, $p_H = 8,0$).

Die beiden Tabellen und Figuren zeigen in gleicher Weise, daß unter gleichen Bedingungen deutlich meßbare Unterschiede in der Färbung bei *P. caudatum* und *P. multimicronucleatum* vorhanden sind. Bei einer gegebenen Farbstoffkonzentration speichert *P. multimicronucleatum* in der gleichen Zeit mehr Farbstoff als *P. caudatum*; die Zahl der gefärbten Granula ist bei ersteren größer, dementsprechend auch der Grad der Farbintensität.

Diese Unterschiede gelten streng bis zur Erreichung der Maxima, bei der Entfärbung werden sie häufig verwischt durch das unterschiedliche Vermögen der beiden Arten, Nahrung aufzunehmen. Deshalb ist bei allen Kurven vermerkt, ob N. V. vorhanden sind oder nicht (\triangle = N. V. vorhanden, ∇ = N. V. fehlend). So sind die Kurven der Textfig. 36 von 24 Stunden an unter diesem Gesichtspunkt zu werten. Wir hatten schon oben bei der Abhängigkeit der Färbung von der Ernährung gesehen, daß die Entfärbung bei beiden Arten gleichmäßig verläuft, wenn man sie auf gleiche Ausgangsintensität bezieht, anderenfalls müssen die Kurven parallel verlaufen.

Es sei hier noch auf ein merkwürdiges Verhalten aufmerksam gemacht, das besonders in Textfig. 35, aber auch sonst in den Tabellen zum Ausdruck kommt, daß Tiere, die mit Konzentrationen unter Granulafärbung oder mit solchen, bei denen die Granulafärbung im Maximum nur schwach ist und daher rasch wieder verschwindet, gefärbt sind, zu viel früheren Zeitpunkten keine N. V. mehr bilden, als die mit höheren Konzentrationen gefärbten. Daß bei diesen die gefärbten N. V. eine lange Ruheperiode im Tier durchmachen und neugebildete vielleicht den kleineren Teil des Gesamtbestandes darstellen, beseitigt diesen Unterschied nicht vollkommen. Man könnte vermuten, daß hier eine spezifische Wirkung des Farbstoffes auf die N. V.-Bildung oder die Dauer der Ruheperiode, die sie durchmachen, vorliegt.

b) Nachweis der Unterschiede mit Hilfe von Giften und hoher Temperatur.

1. Nachdem es sich gezeigt hatte, daß *P. caudatum* und *P. multimicronucleatum* sich gegenüber Vitalfarben physiologisch unterschiedlich verhalten, wurde nunmehr untersucht, ob sich dieselben physiologischen Unterschiede auch hinsichtlich der Wirkung von Giften auf die beiden Paramäcienarten nachweisen ließen. Es wurde die Wirkung von zwei, ihrer Natur nach ganz verschiedenen Giften, arseniger Säure und Äthylalkohol beobachtet, sowohl die abtötende Wirkung bei relativ hohen Konzentrationen als auch der Einfluß

auf die Teilungsrate bei untertödlichen Konzentrationen. Schließlich wurde hiermit noch der Einfluß hoher Konzentrationen von Neutralrot auf die Teilungsrate verglichen, ein Versuch, der den Zusammenhang zwischen Giftwirkung und Vitalfärbung herstellt und die gegenseitigen Beziehungen erkennen läßt.

Die Wirkung, die die arsenige Säure auf lebendes Protoplasma ausübt, ist eine spezifische Giftwirkung; sie stellt ebenso wie stärkere Säuren und Basen, deren Einfluß auf Paramäcien BARRAT genau untersucht hat, einen irreversiblen Prozeß dar; Paramäcien, die tödlichen Konzentrationen ausgesetzt waren, können sich nach Übertragen in ein giftfreies Medium nur unvollkommen und für kurze Zeit erholen.

Demgegenüber stellt die Wirkung des Äthylalkohols einen bis zu einem gewissen Grade reversiblen Prozeß, eine Narkose dar. Werden Paramäcien, die infolge der Alkoholeinwirkung bewegungslos am Grunde des Zuchtgefäßes liegen, in alkoholfreies Wasser übertragen, so erlangen sie, falls die Narkose nicht zu lange gedauert hat, ihre Bewegungsfähigkeit in vollem Maße wieder¹⁾. Die chemische Natur der Prozesse ist in beiden Fällen nicht vollkommen geklärt, bei der Giftwirkung der arsenigen Säure dürfte eine im weiteren Sinne chemische Bindung in Frage kommen, während bei der Narkose eine Hemmung chemischer Reaktionen im Zellinnern oder eine Änderung der Permeabilität wahrscheinlich ist (HÖBER).

Die toxische Wirkung der arsenigen Säure auf *P. caudatum* sowie deren Einfluß auf die Giftfestigkeit hat NEUHAUS untersucht. Er findet, daß eine Konzentration von 1:100 000 *P. caudatum* in 60—90 Minuten abtötet, während eine solche von 1:20 Mill. stimulierend auf die Teilungsrate wirkt. Bezüglich der Gewöhnung an dieses Gift findet er, daß arsenige Säure unter allen untersuchten Giften den geringsten Grad von Giftfestigkeit besitzt. Über den Einfluß von Äthylalkohol auf *P. caudatum* gibt BILLS an, daß eine Konzentration von 15 Proz. den größten Prozentsatz der Tiere innerhalb einer Stunde narkotisiert, ferner, daß sich Hungertiere normalen gegenüber insofern anders verhalten, als bei ihnen 1proz. Alkohol den Hungertod hinausschiebt.

Bei der Ermittlung der tödlichen Konzentration von arseniger Säure diente als Stammlösung eine Lösung, die 0,1 g Arsenik in 1 l

¹⁾ Man kann dies sehr leicht beobachten, wenn man von einem Salznäpfchen, das durch Alkohol narkotisierte Paramäcien enthält, den Deckel abnimmt und den Alkohol verdunsten läßt. Nach 2—3 Stunden hat die Mehrzahl der Tiere ihre Bewegungsfähigkeit vollständig wiedererlangt.

Leitungswasser enthielt. Diese wurde zu Beginn eines Versuches in der Weise verdünnt, daß in Salznäpfchen zu 1 ccm Paramäcien enthaltender Kulturflüssigkeit 0,05—0,08 ccm der Stammlösung hinzugefügt wurde. Es wurde dann durch Beobachtung zu verschiedenen Zeiten innerhalb von 24 Stunden jedesmal die Höchstkonzentration festgestellt, bei der mindestens 80 Proz. der Tiere lebten, d. h. normales Aussehen und energische Bewegung zeigten. Waren über 80 Proz. der Tiere des Näpfchens nächst höherer Konzentration tot, so wurde die erste Konzentration als Grenzkonzentration vermerkt. War der Prozentsatz an toten Tieren geringer, so wurde festgestellt, ob im Näpfchen der übernächsten höheren Konzentration mindestens 80 Proz. tot waren; war dies der Fall, so wurde das arithmetische Mittel zwischen der ersten und zweiten Konzentration als Grenzkonzentration angesehen. Es zeigte sich, daß die Grenze zwischen zwei Konzentrationen, die wie die Glieder einer arithmetischen Reihe aufeinanderfolgen, ziemlich scharf ist, nur in seltenen Ausnahmen erstreckte sich die Grenze zwischen lebend und tot über mehr als drei Konzentrationen. Für jede Konzentration wurden in vier Salznäpfchen Tiere angesetzt (je etwa 100) und mit der entsprechenden Verdünnung behandelt; in den Tabellen sind immer die Mittelwerte aus diesen vier Beobachtungen, die sich von den Einzelwerten meistens nicht oder nur sehr wenig unterscheiden, angegeben. Um Gleichheit der Ernährungsbedingungen für beide Arten zu schaffen, wurden die Tiere einen Tag vor Beginn des Versuchs aus der Heukultur in frisch bereitete 0,025 proz. Fl. E.-Lösung gebracht. Nachdem bei den Färbungsversuchen die Abhängigkeit der Färbung vom Ernährungszustand und der Wasserstoffionenkonzentration festgestellt worden war, lag es nahe, hier den Einfluß derselben Faktoren auf die Giftwirkung zu untersuchen. Es wurde daher, genau wie bei den Färbungsversuchen, die Giftwirkung bei normal ernährten Tieren mit der bei solchen, die in um das Doppelte und das Vierfache verdünnten Fl. E.-Lösungen einen Tag gelebt hatten, verglichen. Außerdem wurden zu Beginn jedes Versuches in allen drei Fällen die p_{H} -Werte gemessen. In den Tabellen sind in der ersten Spalte jeweils unter a die Versuche mit normal ernährten, unter b die in mit 1:2, unter c die in mit 1:4 Teilen Wasser verdünnten Fl. E.-Lösungen gezüchteten Tiere angegeben. In Tabelle 16 sind in Spalte 1—6 die Daten für *P. multimicronucleatum*, in 7—11 die für *P. caudatum* angegeben. In Spalte 6 und 7 sind die p_{H} -Werte für beide Arten bei Versuchsbeginn verzeichnet. Die Versuche sind stets für beide Arten gleichzeitig ausgeführt. In Textfig. 37 ist das

Tabelle 16.

Grenzkonzentration bei Stammlösung As₂ O₃ 0,1 g/Liter.

1	<i>P. multimicronuclatum</i>				6	7	<i>P. caudatum</i>			
	2	3	4	5			8	9	10	11
Nr.	Zeit (Stunden)				pH	pH	Zeit (Stunden)			
	3	6	18	24			3	6	18	24
VII a	0,8	0,8	—	0,38	7,93	8,10	0,8	0,8	—	0,57
b	—	0,8	—	0,35	7,76	7,80	—	0,6	—	0,25
c	0,45	—	0,2	—	7,50	7,52	0	—	0	—
VIII a	0,5	0,5	—	0,5	7,52	7,35	0,5	0,5	—	0,5
b	0,5	—	—	0,35	7,80	7,65	0,5	—	—	0,25
c	0,5	0,35	—	0,25	7,75	7,56	0,2	0,15	—	0,1
IX a	0,5	0,5	—	0,5	7,57	7,46	0,5	0,5	—	0,5
b	0,5	—	—	0,35	7,58	7,65	0,5	—	—	0,3
c	0,5	0,45	—	0,15	7,60	7,72	0,25	0,2	—	0,05
X a	0,5	0,5	—	0,35	7,86	7,52	0,5	—	—	0,5
b	0,5	—	—	0,1	7,80	7,80	0,5	—	—	0,35
c	0,1	0,05	—	0	7,75	7,60	0,35	0,2	—	0,08
XI a	—	0,45	—	0,4	8,00	7,75	—	0,55	—	0,5
b	—	0,45	—	0,2	7,60	7,53	—	0,40	—	0,08
c	0,5	—	—	0,2	7,60	7,56	0,25	—	—	0,08
XII ¹⁾ a	0,8	0,8	—	0,25	6,60	7,38	0,8	0,8	—	0,45
b	—	0,8	—	0,25	7,25	7,80	—	0,4	—	0,25
c	0,3	—	0	—	7,30	7,77	0	—	—	0

Ergebnis eines solchen Versuchs (XI, a, b, c) graphisch dargestellt, und zwar die Grenzkonzentration, bei der die Tiere gerade noch leben können, in Abhängigkeit von der Zeit.

Betrachten wir die Kurven für die drei verschiedenen Ernährungsbedingungen a, b, c, so sehen wir, daß für beide Arten die Grenzkonzentrationen um so niedriger sind (d. h. die Kurven tiefer liegen), in je verdünnteren Fl. E.-Lösungen die Tiere der Giftwirkung unterworfen wurden. Für *P. multimicronucleatum* ist die Abnahme der Grenzkonzentration dabei relativ gering, bei *P. caudatum* hingegen sinkt die Konzentration bei c nach 3 Stunden auf über die Hälfte, nach 24 Stunden sogar auf den siebenten Teil der bei a verzeichneten herab. Bei allen Versuchen (s. Tabelle 16) liegt bei normalen Ernährungsbedingungen (a) die Grenzkonzentration zu jedem Zeitpunkt für *P. caudatum* deutlich höher als für *P. multimicronucleatum*, d. h. *P. caudatum* verträgt unter diesen Bedingungen höhere Konzentrationen von arseniger Säure als *P. multimicronucleatum*. Bei den stärker verdünnten Fl. E.-Lösungen tritt dann, infolge der stärkeren Abnahme der Grenzkonzentration bei *P. caudatum* gegen-

¹⁾ Heulösung.

über *P. multimicronucleatum* eine Änderung der relativen Lage der beiden Kurven ein, die Kurven rücken zunächst zusammen und schließlich sinkt die Kurve für *P. caudatum* unter diejenige von *P. multimicronucleatum* herab (c).

Es bleibt jetzt festzustellen, ob diese Tatsache allein den Ernährungsbedingungen zuzuschreiben ist, oder ob der andere Faktor, das p_H , ebenfalls beteiligt ist. Würde eine Änderung des p_H -Wertes für die relative Lageänderung verantwortlich sein, so müßte man erwarten, daß unter allen drei Bedingungen (a, b, c) die p_H -Werte zu Beginn des Versuches bei beiden Arten der Höhe der Grenzkonzentration proportional wären. Dies ist aber, wie Tabelle 16 zeigt, nicht der Fall.

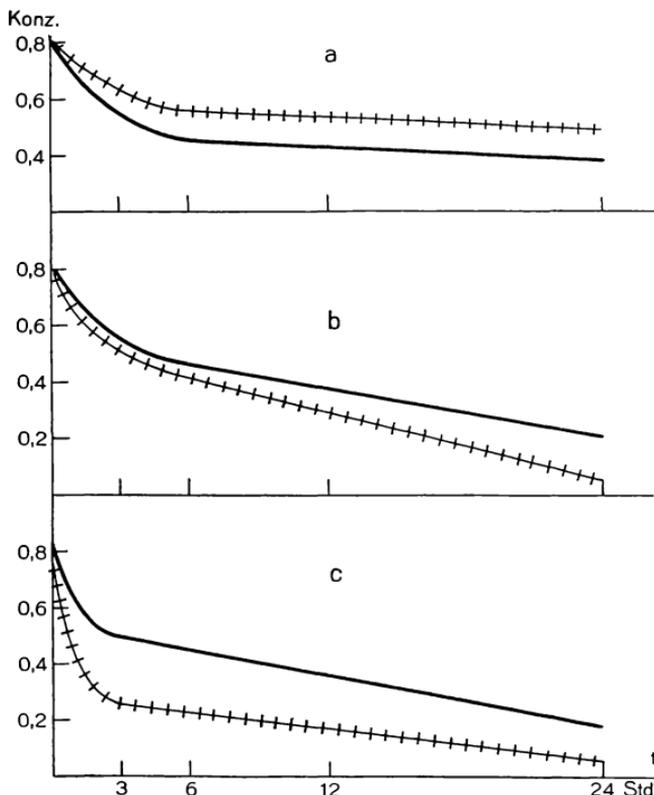


Fig. 37. Kurven der Grenzkonzentration von arseniger Säure für *P. multi.* und *P. caud.* bei verschiedenen Ernährungsbedingungen, a, b, c, ——— Kurve: *P. multi.*, + + + + Kurve: *P. caud.*

Damit bleibt also nur der Einfluß der Ernährung als Erklärung für die relative Lageänderung der Grenzkonzentrationskurven übrig. Nun wissen wir aber aus früheren Versuchen, daß *P. caudatum* stärker nahrungsabhängig ist als *P. multimicronucleatum*; da weiter die Giftwirkung bei beiden Arten von dem Ernährungszustand abhängig ist und bei normalen Bedingungen die Grenzkonzentration für *P. caudatum* höher als für *P. multimicronucleatum* liegt, so wird man eine Änderung der Lage der beiden Kurven zueinander (die Umkehr ist unwesentlich) hiernach geradezu fordern müssen.

Es sollen jetzt die Versuche mit Alkohol als Gift, die gleichzeitig ausgeführt wurden (dieselben pH-Werte), besprochen werden. Als Stammlösung wurde 15proz. Alkohol benutzt, die Verdünnungen wurden in gleicher Weise wie bei der arsenigen Säure vorgenommen. Tabelle 17 stellt in genau derselben Weise wie Tabelle 16 die Er-

Tabelle 17.

Grenzkonzentration bei Stammlösung Alkohol 15 %.

1	<i>P. multimicronucleatum</i>					<i>P. caudatum</i>				
	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
Nr.	Zeit (Stunde)				pH	pH	Zeit (Stunde)			
	3	6	18	24			3	6	18	24
I a	0,2	0,15	—	0,15	7,93	8,10	0,3	—	—	0,3
b	0,1	—	—	0,1	7,76	7,80	0,3	0,2	—	0,2
c	0,15	—	0,15	—	7,50	7,52	0,05	—	0	—
II a	0,25	—	—	0,25	7,52	7,35	0,35	—	—	0,35
b	—	0,25	—	0,25	7,80	7,65	—	0,25	—	0,25
c	0,15	0,05	—	0,05	7,75	7,56	0,15	0,1	—	0,1
III a	0,2	—	—	0,2	7,57	7,46	0,35	—	—	0,35
b	—	0,15	—	0,15	7,58	7,65	0,25	—	—	0,25
c	0,15	0,1	—	0,1	7,60	7,72	0,15	0,15	—	0,1
IV a	0,3	—	—	0,3	7,86	7,52	0,35	—	—	0,35
b	—	0,2	—	0,15	7,80	7,80	0,28	—	—	0,25
c	0,1	0,1	—	0,05	7,75	7,60	0,15	—	—	0,1
V a	0,15	—	0,15	—	8,00	7,75	—	0,25	—	0,2
b	—	0,15	—	0,15	7,60	7,53	—	0,15	—	0,1
c	0,1	—	—	0,1	7,60	7,56	0,15	—	—	0,1
VI ¹⁾ a	0,3	0,25	—	0,15	6,60	7,38	0,35	—	—	0,3
b	0,15	0,15	—	0,1	7,25	7,80	0,25	0,15	—	0,1
c	0,75	—	0,05	—	7,30	7,77	0,1	—	0,03	—

gebnisse von sechs Versuchsgruppen zusammen. Versuch II a, b, c ist in Textfig. 38 graphisch dargestellt; sie zeigt im wesentlichen dasselbe Bild wie die vorhergehende Figur. Auch hier ist die Grenzkonzentration bei b (Fl. E. 1:1 verdünnt) geringer als bei a (unverdünnt), bei c (Fl. E. 1:4 verdünnt) geringer als bei b. Normalerweise ist die Grenzkonzentration ebenfalls wieder für *P. caudatum* höher als für *P. multimicronucleatum*, auch die Änderung der Lage der beiden Kurven zueinander ist eine ähnliche, nur findet hier keine Überschneidung statt. Ein prinzipieller Unterschied zwischen den Kurven für arsenige Säure und Alkohol besteht darin, daß letztere sehr bald einen Sättigungswert erreichen, d. h. der Abszissen-

¹⁾ = Heulösung.

achse parallel laufen, während erstere ständig kleineren Konzentrationswerten zustreben. Dieser Unterschied dürfte in der verschiedenen Natur der beiden Giftwirkungen zu suchen sein. Die langsame Abnahme der Grenzkonzentration mit der Zeit bei arseniger Säure scheint mir auf eine Reaktion hinzudeuten, während die Erreichung eines Sättigungswertes sich mit den Vorstellungen über die Narkose in Einklang bringen läßt.

Zusammenfassend läßt sich also sagen, daß hinsichtlich der tödlichen Wirkung von arseniger Säure und Äthylalkohol *P. caudatum* und *P. multimicronucleatum* sich darin unterscheiden, daß *P. caudatum* bei normaler Ernährung höhere Konzentrationen von beiden Giften vertragen kann als *P. multimicronucleatum*; daß bei beiden Arten eine Abhängigkeit der Giftwirkung vom Ernährungszustand besteht, daß diese Abhängigkeit bei *P. caudatum* infolge

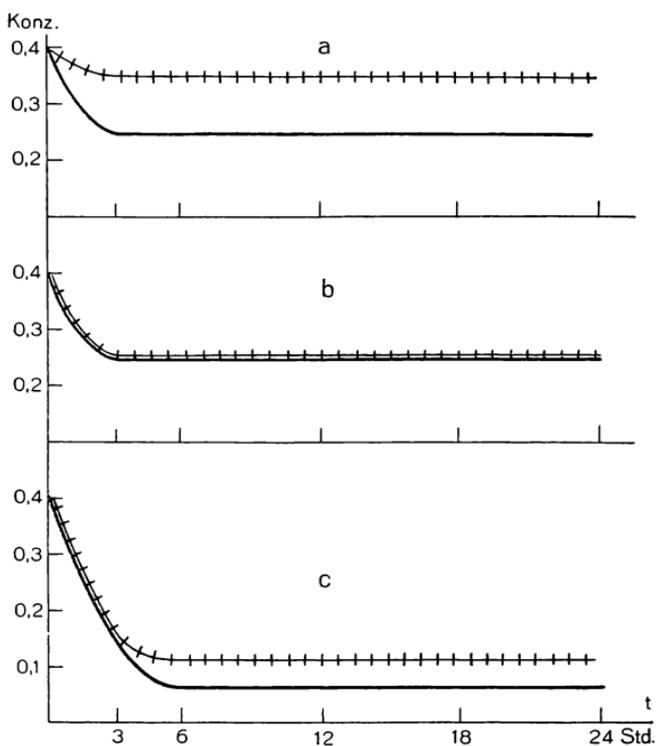


Fig. 38. Kurven der Grenzkonzentration von Äthylalkohol für *P. multi.* und *P. caud.* bei verschiedenen Ernährungsbedingungen, a, b, c. ———— Kurve: *P. multi.*, + + + + Kurve: *P. caud.*

seiner stärkeren Nahrungsabhängigkeit größer ist als bei *P. multimicronucleatum*, und daß hierdurch sekundär eine Umkehrung der Verhältnisse erfolgen kann.

Anders als bei den Giftwirkungen war bei dem Einfluß höherer Temperatur auf die Paramäcien die Grenze zwischen schädlichen und unschädlichen Temperaturen nicht scharf. Es mag dies z. T. an der Ungunst der Versuchsbedingungen gelegen haben, vielleicht aber sind auch die individuellen Unterschiede bezüglich des Verhaltens zu verschiedenen Temperaturen größer als zu Giften. Es

wurde daher auf eine Abstufung der Temperatur verzichtet und nur festgestellt, wie groß der Prozentsatz an Tieren beider Arten war, die eine Temperatur von 33—34°, die sich als besonders zweckmäßig erwies, während einer Zeit von 2 Tagen ertragen. Es wurden in drei Versuchen Tiere beider Arten aus verschiedenen Fl. E.-Lösungen und verschiedenen Kulturen, in denen sie einen Tag gelebt hatten, in Mengen von 2 ccm in Salznäpfchen gebracht und im Thermostaten einer Temperatur, die maximal zwischen 33 und 34° schwankte, ausgesetzt. Zu verschiedenen Zeiten wurde festgestellt, wieviel Prozent der Tiere noch lebten. Jeder Versuch wurde in vierfacher

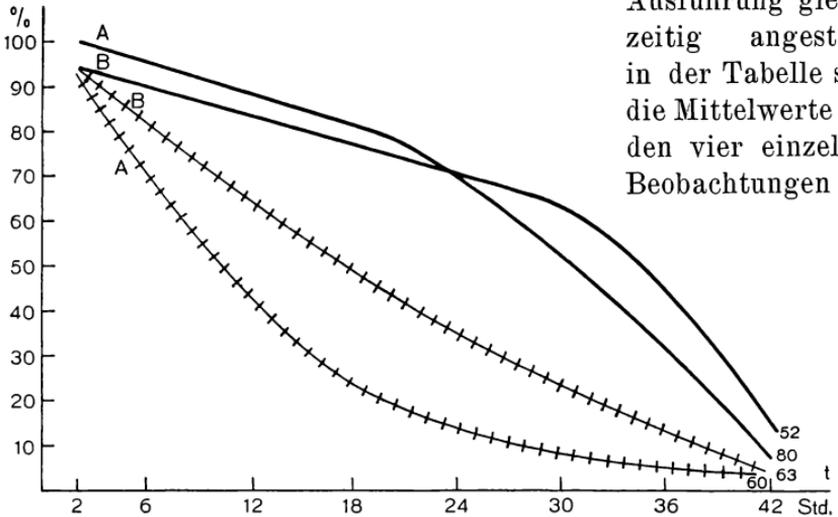


Fig. 39. Der tödliche Einfluß einer Temperatur von 33—34° auf *P. multi.* und *P. caud.* ———— Kurve: *P. multi.*, +++ Kurve: *P. caud.*

gegeben. Die Zählungen wurden so vorgenommen, daß ungefähr 100 Tiere in jedes Näpfchen gebracht und zu jeder Beobachtungszeit die Tiere, die tot am Boden lagen, mit einer feinen Pipette entfernt und gezählt wurden. Die Genauigkeit des Verfahrens betrug etwa 10 Proz. In Tabelle 18 sind die Ergebnisse zusammengestellt, Textfig. 39 veranschaulicht die Werte des Versuchs I.

Man ersieht aus der Tabelle und der graphischen Darstellung, daß der Prozentsatz der Tiere von *P. multimicronucleatum*, die der hohen Temperatur gewachsen waren, zu jeder Zeit erheblich höher ist als derjenige von *P. caudatum* zu den entsprechenden Zeiten. *P. multimicronucleatum* vermag also durchschnittlich höhere Temperaturen zu ertragen als *P. caudatum*, oder bei einer bestimmten Temperatur erliegt *P. caudatum* eher der Wärmewirkung als *P. multimicronucleatum*.

Tabelle 18.

Ver- such	Kultur	<i>P. multimicronucleatum</i>							<i>P. caudatum</i>						
		Zeit in Stunden							Zeit in Stunden						
		2	4	12	18	24	30	42	2	4	12	18	24	30	42
I	A	100	—	—	84	—	50	8	93	—	—	26	—	9	9
	B	95	—	—	77	—	60	14	95	—	—	50	—	24	24
II	A	83	48	35	—	0	—	—	5	0	—	—	—	—	—
	B	73	70	48	—	0	—	—	3	0	—	—	—	—	—
III	A	100	100	80	—	54	—	—	79	54	40	—	6	—	—
	B	100	100	95	—	83	—	—	83	54	26	—	6	—	—

Es ist daher zu vermuten, daß *P. caudatum* auch auf untertödliche Temperaturen stärker in seinen Lebensäußerungen reagiert als *P. multimicronucleatum*. Das wird bestätigt durch die Angaben, die STRANGHÖNER über die Abhängigkeit der Teilungsrate von der Temperatur bei beiden Arten macht. STRANGHÖNER fand an reinen Linien, die 6 Monate gezüchtet wurden, eine durchschnittliche Teilungsrate für

<i>P. multimicronucleatum</i> von 0,69 pro Tag	}	bei Zimmertemperatur,
<i>P. caudatum</i> von 0,61 pro Tag		
<i>P. multimicronucleatum</i> von 0,90 pro Tag	}	bei 27° im Thermostaten.
<i>P. caudatum</i> von 1,13 pro Tag		

Während bei Zimmertemperatur das Verhältnis, Teilungsrate von *P. caudatum*: Teilungsrate von *P. multimicronucleatum* 0,88 beträgt, hat es sich bei 27° auf 1,26 erhöht; *P. caudatum* hat also auf die Temperaturerhöhung erheblich stärker reagiert als *P. multimicronucleatum*.

2. Um den Einfluß der Gifte auf die Teilungsrate bei beiden Arten festzustellen, wurden Tiere beider Arten in Salznäpfen isoliert, verschiedenen Konzentrationen der Gifte unterworfen und 20 Tage lang die Anzahl der Teilungen täglich vermerkt. Als Nährlösung diente 0,025proz. Fl. E.-Lösung, die täglich frisch hergestellt und erneuert wurde. Als Stammlösungen dienten Lösungen von arseniger Säure von 0,01 g/l und 0,05 g/l und 6proz. Äthylalkohol. Von der ersten Arsenlösung wurden 0,1—0,5 ccm zu 1 ccm Kulturlösung, von der zweiten 0,2 und 0,5 ccm zu derselben Menge hinzugegeben, so daß sich eine Verdünnungsreihe von 0,1, 0,2, 0,3, 0,5, 1,0 und 2,5 ergab. 6proz. Alkohol wurde in den Mengen 0,1, 0,2, 0,3, 0,5 ccm zu 1 ccm Kulturlösung verwendet. Außerdem wurde die Einwirkung von

Neutralrot in den Verdünnungen 1:100 000, 1:250 000, 1:1 Mill., 1:2,5 Mill., 1:5 Mill. auf die Teilungsrate festgestellt. Es wurde jedesmal 0,1 ccm Farbe zu 1 ccm Paramäcien enthaltender Fl. E.-Lösung gegeben, Farbe und Nährlösung jeden Tag erneuert. Von jeder Konzentration wurden drei Einzelzuchten a, b, c, außerdem drei Kontrollzuchten ohne Gift von jeder Art angesetzt, also im ganzen 96 Einzelzuchten. Starb eine Linie aus, so wurde aus einer der beiden anderen Schwesterlinien eine neue Linie abgezweigt. Alle 6 Tage wurde ein „giftfreier“ Tag eingeschaltet, um Gewöhnung an die Gifte möglichst auszuschalten. Daß bei der arsenigen Säure nur eine geringe Gewöhnung möglich ist, wurde schon oben erwähnt; für Äthylalkohol gibt BILLS an, daß eine Vorbehandlung mit untertödlichen Konzentrationen die Resistenz gegen stärkere Konzentrationen nicht vermehrt. In Tabelle 19 sind für jede Konzentration

Tabelle 19.

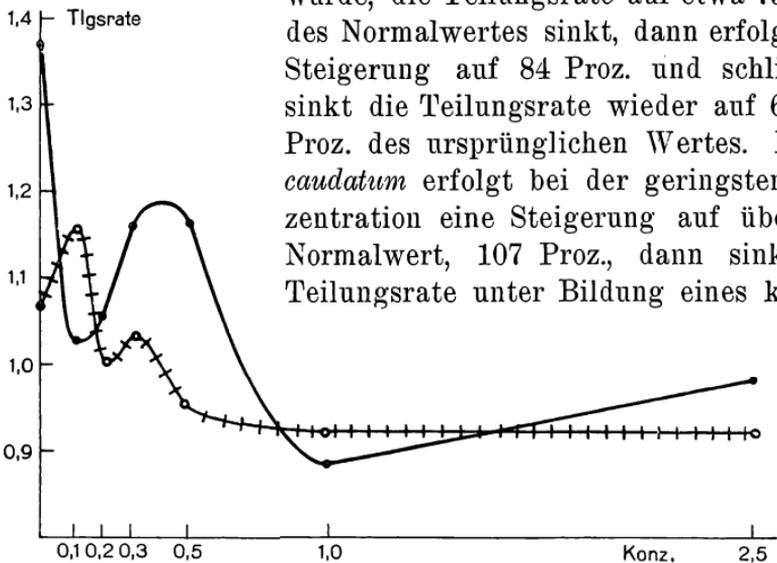
	Konzentrationen	<i>P. multimicronucleatum</i>				<i>P. caudatum</i>			
		Zahl d. Teilungen in 20 Tagen				Zahl d. Teilungen in 20 Tagen			
		a	b	c	Rate	a	b	c	Rate
Arsenige Säure	Kontr.	23	29	30	1,37	22	23	19	1,07
	0,1	20	18	23	1,02	23	22	24	1,15
	0,2	24	15	24	1,05	23	17	20	1,0
	0,3	27	21	21	1,15	19	21	21	1,02
	0,5	19	26	24	1,15	16	21	20	0,95
	1,0	15	18	20	0,88	22	15	18	0,92
	2,5	21	21	17	0,98	16	20	20	0,93
Äthyl-Alkohol	0,1	15	20	19	0,9	18	19	15	0,87
	0,2	17	12	11	0,67	10	11	13	0,57
	0,3	20	17	12	0,82	17	14	17	0,80
	0,5	13	17	10	0,67	14	13	17	0,73
Neuralrot	5 Mill. ¹⁾	6	11	13	1,0	5	15	12	1,06
	2,5 „ ¹⁾	3	2	7	0,4	9	10	13	1,06
	1 „ ¹⁾	8	6	14	0,47	12	13	12	0,62
	250 000 ¹⁾	0	0	0	0,1	3	4	4	0,36
	100 000 ¹⁾	0	0	1	0	1	1	3	0,17

die Teilungsraten (Anzahl der Teilungen innerhalb von 20 Tagen, dividiert durch 20) angegeben. Die Textfig. 40, 41, 42 stellen die Abhängigkeit der Teilungsrate von der Giftkonzentration bei arseniger Säure, Äthylalkohol und Neutralrot dar.

Die Tabelle zeigt zunächst, daß die Zahl der Teilungen innerhalb von 20 Tagen bei derselben Konzentration erheblich schwankt. Es ist dies verständlich, wenn man bedenkt, welchen Schwankungen

¹⁾ Anzahl der Teilungen in 10 Tagen.

die Teilungsrate normalerweise bei gleichen Ernährungsbedingungen bei verschiedenen reinen Linien ausgesetzt ist (vgl. die Untersuchungen von STRANGHÖNER über die Teilungsrate bei *P. multimicronucleatum*). Wenn ich trotzdem Mittelwerte gebildet habe, so bin ich mir der Fehlerquellen wohl bewußt, immerhin ergeben sich aber für die beiden Arten dabei noch so gut meßbare Unterschiede, daß sie unmöglich allein durch diese Fehlerquellen zustande kommen können. Textfig. 40 zeigt für arsenige Säure, daß bei *P. multimicronucleatum* schon bei der geringsten Konzentration, die angewendet



wurde, die Teilungsrate auf etwa 75 Proz. des Normalwertes sinkt, dann erfolgt eine Steigerung auf 84 Proz. und schließlich sinkt die Teilungsrate wieder auf 64–71 Proz. des ursprünglichen Wertes. Bei *P. caudatum* erfolgt bei der geringsten Konzentration eine Steigerung auf über den Normalwert, 107 Proz., dann sinkt die Teilungsrate unter Bildung eines kleinen

Fig. 40. Teilungsrate von *P. multi.* und *P. caud.* bei Einwirkung von arseniger Säure. ———— Kurve: *P. multi.*, ++++ Kurve: *P. caud.*

zweiten Maximums (95 Proz.) ziemlich gleichmäßig auf 86 Proz. des ursprünglichen Wertes herab.

Bei der Einwirkung des Alkohols (Textfig. 41) sinkt die Kurve für *P. multimicronucleatum* unter Bildung eines geringen Maximums (60 Proz.) ganz erheblich auf 49 Proz. des ursprünglichen Wertes herab, während die Kurve für *P. caudatum* unter Bildung eines ähnlichen Maximums (75 Proz.) nur auf etwa 53 Proz. und als Endwert auf 68 Proz. des ursprünglichen Wertes herabsinkt.

Vergleicht man die Kurven beider Figuren miteinander, so läßt sich zunächst ganz allgemein sagen, daß *P. multimicronucleatum* auf die Giftwirkung viel stärker reagiert hat als *P. caudatum*. Der Verlauf der Kurven läßt sich für *P. multimicronucleatum* durch die Zahlen 100, 75, 84, 68 (bzw. 100, 60, 49), für *P. caudatum* durch 100,

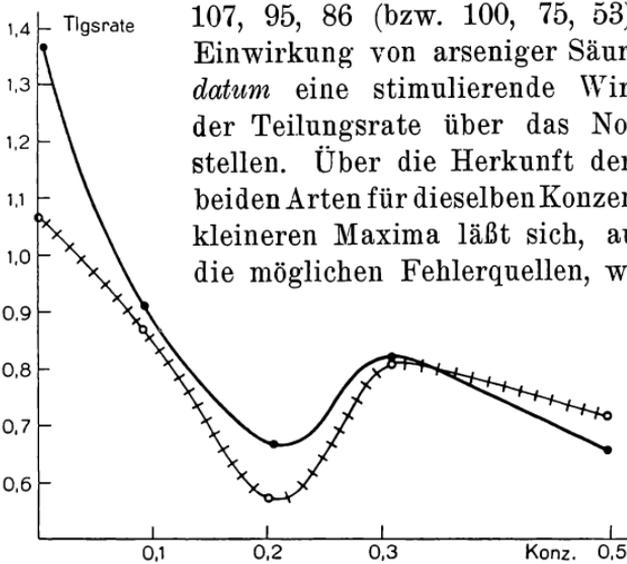


Fig. 41. Teilungsrate von *P. multi.* und *P. caud.* bei Einwirkung von Äthylalkohol. ——— Kurve: *P. multi.*, + + + + Kurve: *P. caud.*

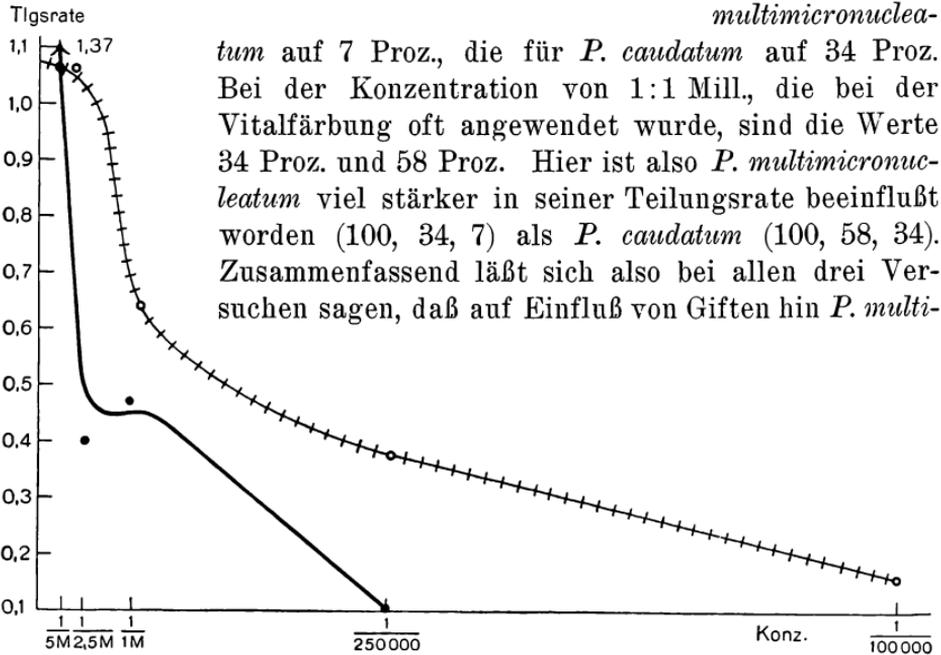


Fig. 42. Teilungsrate von *P. multi.* und *P. caud.* bei Einwirkung von Neutralrot. ——— Kurve: *P. multi.*, + + + + Kurve: *P. caud.*

107, 95, 86 (bzw. 100, 75, 53) darstellen. Bei der Einwirkung von arseniger Säure läßt sich bei *P. caudatum* eine stimulierende Wirkung, eine Erhöhung der Teilungsrate über das Normalmaß hinaus, feststellen. Über die Herkunft der in beiden Figuren bei beiden Arten für dieselben Konzentrationen auftretenden kleineren Maxima läßt sich, auch mit Rücksicht auf die möglichen Fehlerquellen, wenig aussagen.

3. Bei der Einwirkung von Neutralrot (Textfig. 42) sinkt bei Konzentrationen, die für die Vitalfärbung noch gerade unschädlich sind (1:250 000), die Teilungsrate für *P.*

multimicronuclea-

tum auf 7 Proz., die für *P. caudatum* auf 34 Proz. Bei der Konzentration von 1:1 Mill., die bei der Vitalfärbung oft angewendet wurde, sind die Werte 34 Proz. und 58 Proz. Hier ist also *P. multimicronucleatum* viel stärker in seiner Teilungsrate beeinflusst worden (100, 34, 7) als *P. caudatum* (100, 58, 34). Zusammenfassend läßt sich also bei allen drei Versuchen sagen, daß auf Einfluß von Giften hin *P. multi-*

micronucleatum viel stärker durch Änderung der Teilungsrate reagiert als *P. caudatum*.

c) Beziehungen zwischen Vitalfärbung und Giftwirkung und ihren Einwirkungen auf beide Arten.

Überblickt man zum Schluß die bei der Feststellung der physiologischen Unterschiede gefundenen Ergebnisse, so erhebt sich die Frage, ob man die auf verschiedene Weise erhaltenen Resultate in Einklang bringen kann. Daß es sich bei Vitalfärbung und Giftwirkung um vergleichbare physiko-chemische Vorgänge handelt, geht wohl aus den eingangs gegebenen Darstellungen über Permeabilität und Speicherung zur Genüge hervor. Sowohl Farbstoffe als auch Gifte werden von der Zelle aufgenommen und treten in ihrem Inneren den Zellbestandteilen irgendwie gegenüber. Wir haben gesehen, daß sich *P. multimicronucleatum* vor *P. caudatum* dadurch auszeichnet, daß es bei einer gegebenen untertödlichen Farbstoffkonzentration größere Mengen aufnehmen und speichern kann, und bei einer gegebenen hinreichend hohen Giftkonzentration der Giftwirkung eher erliegt als dieses. Es liegt nahe, das größere Aufnahme- und Speichervermögen direkt für die schnellere Reaktion auf das Gift hin verantwortlich zu machen. Dafür spricht, daß der Einfluß auf die Teilungsrate bei Vitalfarbstoff und Gift derselbe ist. Ob Unterschiede der Permeabilität allein bei beiden Arten für das verschiedene Verhalten verantwortlich zu machen sind, läßt sich aus den Versuchen mit Giften nicht entscheiden. Nach den Vitalfärbungsversuchen ist dies jedoch in hohem Grade unwahrscheinlich. Wäre es der Fall, so müßte man erwarten, wenigstens bei bestimmten, genügend hohen Konzentrationen, daß das von *P. multimicronucleatum* bei einer bestimmten Konzentration erreichte Färbungsmaximum zwar später, aber schließlich doch auch einmal von *P. caudatum* erreicht werden müßte (s. z. B. Textfig. 36). Das ist aber nicht der Fall. Daraus folgt, daß die vorhandenen Unterschiede ebenfalls zu einem Teil einem Unterschied im Speichervermögen zuzuschreiben sind, sicher für Vitalfarben, wahrscheinlich, infolge der physiko-chemischen Ähnlichkeit, auch für Gifte.

Das Verhalten zu relativ hohen Temperaturen läßt sich mit dem zu Farbstoff und Gift nicht ohne weiteres vergleichen. Das Verhalten ist hier umgekehrt. *P. caudatum* erliegt der erhöhten Temperatur eher als *P. multimicronucleatum*, auch der Einfluß auf die Teilungsrate (s. Vers. von STRANGHÖNER) ist der umgekehrte wie bei Vitalfarben und Giften. Es ist also ohne weiteres nicht möglich, zu sagen, daß eine Art extremen Bedingungen besser oder schlechter gewachsen sei; vielmehr haben diese Untersuchungen gezeigt, daß

physiologische Unterschiede zwischen beiden Arten vorhanden sind, die sich verschiedenen Außenfaktoren gegenüber aber in verschiedener Weise äußern.

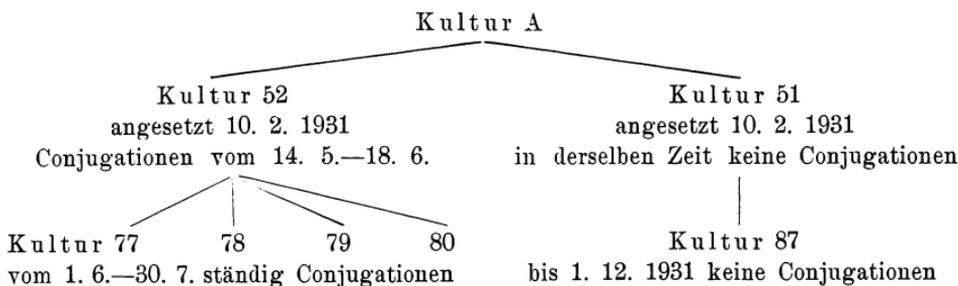
III. Versuche zur Bastardierung von *P. multimicronucleatum* und *P. caudatum*.

a) Experimentelle Erzeugung von Conjugationsperioden.

Vorbedingung zur Ausführung dieser Bastardierungsversuche war, Conjugationsperioden der beiden Arten zur gleichen Zeit zu erhalten. Da vorauszusehen war, daß die Versuche an umfangreichem Material angestellt und oft wiederholt werden mußten, konnte ich nicht auf das zufällige Zusammenfallen von zwei Conjugationsperioden beider Arten warten, selbst, wenn sehr viele Kulturen zur Verfügung standen. Diese Conjugationsperioden mußten experimentell herbeigeführt werden. Über solche Versuche hat schon MAUPAS in seinem großen Werk über die Conjugation der Infusorien berichtet, sie sind seither von vielen Forschern mit mehr oder weniger Erfolg wiederholt und auch theoretisch beim Problem der Bedeutung der Conjugation verwertet worden. MAUPAS teilt die Bedingungen, die zur Conjugation führen, abgesehen von äußeren physikalischen, ein in „Conditions occasionelles et conditions organiques“. Unter organischen Bedingungen versteht er dabei solche, die im Lebenscyclus des Tieres ihre Ursache haben und nicht weiter analysierbar sind; unter „conditions occasionelles“ im wesentlichen eine Verminderung der Nahrung: „Les infusoires, arrivés à la maturité karyogamique, s'accouplent seulement lorsqu'ils sont privés de nourriture“. Wollte er Conjugationen erhalten, so brauchte er nur Tiere, „die die anderen, organischen Bedingungen erfüllten“ zu isolieren und hungern zu lassen, um sie alsbald zu Pärchen vereinigt zu sehen. Auf ähnliche Weise erhielt auch ZWEIBAUM Conjugationen: er ließ aus einer guten Mutterkultur entfernte Tiere fasten und behandelte sie dann mit Salzlösungen. Eine Behandlung mit aq. dest. führte hingegen nicht zum Ziel. Im Vergleich zu diesen bei *P. caudatum* gemachten Erfahrungen weist LANDIS darauf hin, daß *P. multimicronucleatum* leichter zur Conjugation neigt und auch experimentell durch Entfernen der Tiere aus einer gut florierenden Stammkultur in 1—5 Tagen dazu gebracht werden kann. Diesen Angaben gegenüber stehen diejenigen vieler Autoren, denen es mit den angegebenen Methoden nicht möglich war, Conjugationen auch nur in geringer Zahl zu erhalten. So ist dies z. B. BALL bei *P. caudatum* nur bei einer von neun

Kulturen durch frische Nahrungszufuhr geglückt, bei *P. multimicronucleatum* konnten POWERS und MITCHELL nur ganz wenige Pärchen erhalten.

Bei meinen Versuchen über Vitalfärbung war es mir aufgefallen, daß nach Zugabe der in aq. dest. gelösten Farbe in den Versuchsgläschen häufig Conjugationspärchen auftraten. Eine systematische Untersuchung zeigte, daß eine Verdünnung einer guten Kulturlösung mit aq. dest. im Verhältnis 1:1 in sehr vielen Fällen, wenigstens bei *P. multimicronucleatum*, das Auftreten einer großen Zahl von Pärchen zur Folge hatte. Weiter ergab sich, daß bei einzelnen Kulturen auf diesen Reiz hin täglich Conjugationen in so großer Zahl auftraten, daß Einzeltiere manchmal nur schwer zu finden waren. Es wurden täglich aus der betreffenden Kultur abends Tiere entfernt und die mit aq. dest. verdünnte Kulturlösung in bedeckte BOVERI-Schalen gebracht, am anderen Morgen waren die gewünschten Conjugationspärchen vorhanden. Die Mutterkultur wurde mit Leitungswasser wieder aufgefüllt. Andererseits zeigte es sich, daß in anderen Kulturen eine Verdünnung mit aq. dest. überhaupt zu keinem Erfolg führte. Trotz täglicher Reizung mehrere Wochen hindurch trat kein einziges Pärchen auf; diese Unterschiede traten sogar bei Kulturen, die als Massenkultur aus derselben Stammkultur abgezweigt waren, und in deren Besiedlungsdichte kein Unterschied festgestellt werden konnte, auf. Ein solcher Stammbaum sei hier dargestellt.



Eine Beziehung der p_{H} -Werte zu den conjugationsbereiten Kulturen konnte nicht festgestellt werden; Vorbedingung war nur eine gut ernährte und gut florierende Kultur. Bei *P. caudatum* war es schwieriger, mit Hilfe der aq. dest.-Verdünnung Conjugationsperioden zu erzielen¹⁾. Während dies bei *P. multimicronucleatum* bei $\frac{2}{3}$ der angesetzten, gute Ernährungsbedingungen bietenden Kulturen

¹⁾ Da sich eine Verdünnung von 1:1 von *P. caudatum* als schädlich erweist, wurde zu zwei Teilen Kulturlösung ein Teil aq. dest. gegeben.

gelang, beschränkte sich die Zahl bei *P. caudatum* auf $\frac{1}{5}$. War aber eine conjugationsbereite Kultur gefunden, so ließen sich auch bei *P. caudatum* die Conjugationspärchen in großer Zahl täglich beschaffen. So lieferte Kultur 61, angesetzt 1. Mai 1931, vom 14. Mai bis 18. Juni Conjugationspärchen, während die aus derselben Mutterkultur gleichzeitig abgezweigten Kulturen 60 und 63, ebenso wie die Mutterkultur selbst, während der Zeit vom 14. Mai bis 30. Juli keine solchen aufzuweisen hatten.

Es scheint mir hieraus hervorzugehen, daß neben der Veränderung der Ernährungsbedingungen noch ein anderer Faktor beim Eintritt von Conjugationsperioden wirksam ist; ob es sich dabei um eine im Lebenscyclus festgelegte Bedingung (wie MAUPAS glaubt) oder um eine durch Zusammensetzung des Nährmediums bedingte handelt, kann ich nicht entscheiden.

Praktisch verfuhr ich so, daß ich mir von Zeit zu Zeit von jeder Art eine größere Anzahl Heukulturen herstellte und sie auf ihre Conjugationsbereitschaft hin prüfte. Auf diese Weise standen während meiner Untersuchungen im Sommer 1931 von *P. multimicronucleatum* täglich, von *P. caudatum* fast täglich Conjugationspärchen in ausreichendem Maße zur Verfügung.

b) Wiederconjuganten und Conjugation von im Reorganisationsprozeß befindlichen Tieren.

Der Versuch, zwei verschiedene Arten von Paramäcien zur Conjugation zu bringen, wurde schon von R. HERTWIG an *P. caudatum* und *P. aurelia*¹⁾ angestellt. Er brachte Einzeltiere beider Arten in einen kleinen Wassertropfen, in dem die Gewähr, daß die Tiere sich berührten, gegeben war. Die Versuche verliefen ohne Erfolg, und HERTWIG glaubt, daß der Größenunterschied der beiden Arten der Grund für das Nichtconjugieren sei. Dann gibt HANCE an, daß es ihm nicht gelungen sei, Tiere, die die Fähigkeit zur Bildung überzähliger Vakuolen besaßen, mit solchen, die diese Fähigkeit nicht besaßen — das ist also *P. multimicronucleatum* und *P. caudatum* — zu kreuzen. Die angewandte Methode ist nicht angegeben.

Es schien mir von vornherein zweifelhaft, ob die HERTWIG'sche Methode, Einzeltiere zur Conjugation zu bringen, zu einem Erfolg führen könnte. Isoliert man nämlich zwei Einzeltiere von *P. multimicronucleatum*, das stärker zur Conjugation neigt als *P. caudatum*,

¹⁾ *P. aurelia* stand mir in Münster nicht zur Verfügung und war auch von auswärts nicht zu bekommen.

aus einer conjugationsbereiten Kultur, so ist es mir bisher nicht geglückt, solche Tiere zur Conjugation zu bringen, selbst wenn die Verhältnisse in der Ausgangskultur so genau wie möglich nachgeahmt wurden. Lediglich, wenn ich mehrere Tiere in ein enges Glasröhrchen brachte, das an beiden Enden mit MÜLLER-Gaze, die die Tiere nicht passieren konnten, verschlossen war, und das in die Ausgangslösung hineingelegt wurde, habe ich in Einzelfällen bei *P. multimicronucleatum* Conjugationspärchen erhalten, bei *P. caudatum* in keinem Falle. Daher habe ich auf weitere Versuche in dieser Hinsicht verzichtet und mich bemüht, Conjugationen beider Arten in Massenkulturen zu erhalten. Um die beiden Arten unterscheiden zu können, wurde eine, in allen Fällen *P. multimicronucleatum* wegen ihrer größeren Speichermöglichkeit, mit Neutralrot vital gefärbt, und zwar mit einer Konzentration von etwa 1:100 000. Die Technik war im einzelnen folgende: die in den BOVERI-Schalen durch Reizung in Conjugationsbereitschaft geratenen Tiere wurden, sobald sich die ersten Symptome der Conjugation zeigten, gefärbt, nach einer halben bis einer Stunde mit Hilfe der Zentrifuge in Leitungswasser oder in abfiltrierter, keine Paramäcien enthaltender Kulturlösung ausgewaschen. Dann wurden aus den *P. caudatum* enthaltenden BOVERI-Schalen diejenigen ausgewählt, in denen sich bereits einige Pärchen gebildet hatten, und zu diesen ungefärbten Tieren die gefärbten, unter denen inzwischen auch die ersten Pärchen in wechselnder Zahl aufgetreten waren, zugebracht. Von solchen Mischkulturen wurden immer 8—12 angesetzt. Da die Verdünnung mit aq. dest. am vorigen Tag bei den einzelnen BOVERI-Schalen einzeln und nicht genau gleich stark vorgenommen wurde, herrschten auch in diesen einzelnen Mischkulturen immer etwas verschiedene Verhältnisse. Außerdem darf angenommen werden, daß in 30 Proz. der Fälle die beiden Arten in gleicher Conjugationsbereitschaft und beim Mischen ganz im Anfang der Conjugation standen, in weiteren 30 Proz. die Mehrzahl der einen Art, die am Anfang der Conjugation stand, der anderen etwas voraus war, während in den restlichen 40 Proz. eine Art einen weiteren Vorsprung hatte oder beide Arten in größerer Zahl sich bereits vereinigt hatten. Es wurde dann während der Dauer der Conjugationsperiode beobachtet, ob Pärchen aus einem gefärbten und ungefärbten Tier auftraten, falls dies der Fall war, wurden diese isoliert und zu verschiedenen Zeiten fixiert.

Es läßt sich natürlich nicht voraussagen, ob gleiche oder ungleiche Lebensbedingungen für eine Bastardierung günstiger sind. Um möglichst gleiche Bedingungen zu schaffen, habe ich gegen

Ende der 3 Monate hindurch angestellten Versuche die Tiere beider Arten aus den Heukulturen erst in eine 0,025 proz. Fl. E.-Lösung gebracht und dann nach 1—3 Tagen zur Conjugation gereizt, gefärbt und zusammengebracht. Einmal habe ich auf diese Weise, sogar ohne Reizung, gleichzeitig Massenconjugation beider Arten erhalten. Alle diese verschiedenen Verfahren förderten jedoch keine wesentlich verschiedenen Resultate zutage.

Bevor die Resultate mitgeteilt werden, sei noch eine andere Methode, nach der man während der Conjugation *P. caudatum* und *P. multimicronucleatum* voneinander unterscheiden kann, kurz erwähnt. Mit Hilfe der Dunkelfeldbeobachtung ist es möglich, die Beschaffenheit des Macro. zu erkennen. Bei *P. caudatum* zerfällt derselbe bekanntlich erst in den Exconjuganten, während er sich bei *P. multimicronucleatum* schon während der Conjugation in wurstförmige Schlingen auflöst. Eine Kombination von *P. multimicronucleatum* und *P. caudatum* muß deshalb im Dunkelfeld an den Bildern der Macro. zu erkennen sein. Bei längerer Beobachtung lassen sich diese Unterschiede auch schon im Hellfeld erkennen, jedoch bietet die Dunkelfeldbeobachtung eine ungleich größere Sicherheit.

Schon bei den ersten Versuchen erschienen gegen Ende einer Conjugationsperiode Pärchen, die aus einem intensiv gefärbten Partner und einem sehr schwach gefärbten bestanden. Die Durchsicht des fixierten und gefärbten Materials, die vollständig leider erst nach Abschluß der Conjugationsperiode erfolgen konnte, ließ jedoch erkennen, daß es sich in allen Fällen nicht um die erwartete Kombination der beiden Arten handelte, sondern daß ein normales Tier von *P. multimicronucleatum* mit einem Exconjuganten derselben Art „wiederconjugiert“ hatte. Ich habe im zweiten Teil bei der Abhängigkeit der Färbung von der Ernährung darauf hingewiesen, daß bei Exconjuganten infolge der stärkeren Nahrungsaufnahme eine Entfärbung viel rascher eintritt als bei normalen Tieren. Hier waren diese Exconjuganten bereits nahezu farblos (sehr schwache Granulafärbung), so daß eine Kombination eines solchen mit einem gefärbten Tier die gewünschte Vereinigung von *P. caudatum* und *P. multimicronucleatum* vortäuschen mußte. Es zeigte sich bei den folgenden Versuchen, daß diese „Wiederconjuganten“, wie sie KLITZKE bei *P. caudatum* genannt hat, in fast allen Conjugationsperioden auftraten, sobald die ersten Exconjuganten vorhanden waren; aber immer nur bei *P. multimicronucleatum* und in geringer Zahl. Es ließ sich deshalb am lebenden Objekt nicht unterscheiden

ob Wiederconjuganten oder die gewünschte Kreuzung vorlagen. Hätte man vorher gewußt, daß *P. caudatum* nicht zur Wiederconjugation neigt — wenigstens bei diesen Versuchen — so hätte sich die Schwierigkeit dadurch beheben lassen, daß man *P. caudatum* und nicht *P. multimicronucleatum* gefärbt hätte.

Durch die Wiederconjugation auf anormale Conjugationsvorgänge bei *P. multimicronucleatum* aufmerksam gemacht, habe ich fast täglich das gesamte Conjugationsmaterial, teils gefärbt, teils ungefärbt, jedesmal mehrere hundert Pärchen, fixiert und später gefärbt. Unter diesem Material befanden sich als neue Kombination Pärchen von *P. multimicronucleatum*, die aus einem normalen Tier und einem solchen, das einen Kernerneuerungsprozeß durchmachte, bestanden; außerdem trat dreimal die gesuchte Kombination *P. multimicronucleatum* \times *P. caudatum* auf.

Es sollen zunächst die Verhältnisse an Wiederconjuganten, von denen mir ein Material von 36 Stück zur Verfügung stand, sowie diejenigen bei der Kombination *P. multimicronucleatum* normal \times *P. multimicronucleatum* *Endomixis*-Partner dargestellt werden.

Für *P. caudatum* sind Wiederconjuganten von KLITZKE beschrieben worden. Diese bestehen entweder aus einem normalen Tier und einem Exconjuganten oder aus zwei Exconjuganten; die letzteren können sich dabei sogleich nach Beendigung der vorhergehenden Conjugation vereinigt oder sich bereits ein oder mehrere Male geteilt haben. Dabei sind die Exconjuganten an der Zahl der Anlagen des neuen und den Resten des alten Macro. als solche zu erkennen. Der Kleinkernapparat ist, abgesehen von den Ausnahmen, die im ersten Teil bei den Kernverhältnissen der Exconjuganten von *P. caudatum* erwähnt worden sind, bereits wieder normal, d. h. es ist ein funktionierender Micro. vorhanden. Eine Abbildung zeigt den Übertritt der Wanderkerne, so daß KLITZKE daraus schließen muß, daß der Conjugationsvorgang normal verläuft. Vor KLITZKE haben MAUPAS bei *P. aurelia*, BÜTSCHLI bei *P. putrinum* und DOFLEIN bei *P. caudatum* Wiederconjuganten beschrieben.

Bei den von mir untersuchten Wiederconjuganten haben sich die Exconjuganten stets mit einem normalen Tier gepaart und stehen alle vor der ersten Teilung. Bei 33 von ihnen hat bei dem normalen Tier noch keine Teilung der Micro. stattgefunden, d. h. die Pärchen stehen noch ganz im Anfang des Conjugationsprozesses. Die Zahl der Micro. bei den Exconjuganten beträgt bis zu 32, die Exconjuganten stehen also spätestens auf dem Stadium der dritten Syncaryonteilung. Da eine Trennung der Conjugationspärchen meist

nach der zweiten Syncaryonteilung erfolgt und die Teilungen sehr rasch aufeinanderfolgen, müssen sich die Exconjuganten unmittelbar nach der Trennung aufs neue mit einem normalen Partner vereinigt haben. Textfig. 43 stellt das früheste Stadium, das gefunden wurde, dar; das normale Tier und der Exconjugant besitzen je vier Micro. Daß es sich um einen Exconjuganten von *P. multimicro-*

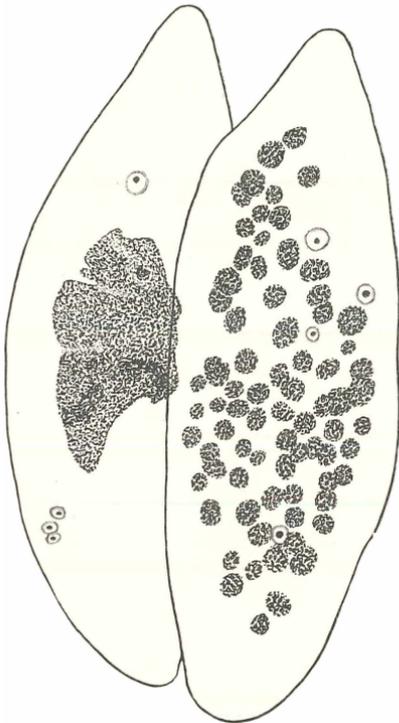


Fig. 43. *P. multi*. Wiederconjugant, frühes Stadium. Vergr. 1:400.

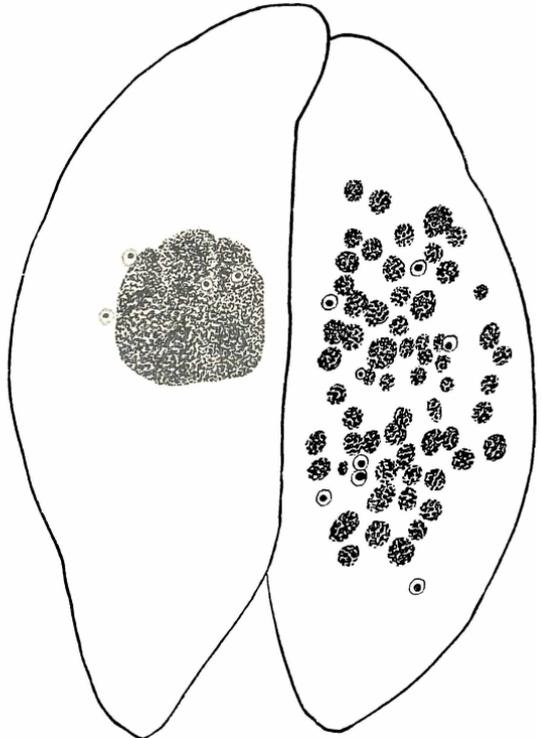


Fig. 44. *P. multi*. Wiederconjugant, frühes Stadium.

nucleatum handelt, geht außer aus dem Bild des Kleinkernes auch noch aus dem des alten Macro., der einen Zerfall in 70--80 Brocken zeigt, hervor. Ein entsprechendes Stadium von *P. caudatum* würde einen Zerfall in wurstförmige Schlingen, ein älteres, bei dem der Macro. schon zerfallen ist, entweder acht große Micro. oder bereits Placenten aufweisen. Textfig. 44 zeigt ein Pärchen, dessen Exconjugant acht typische Micro. (Stadium K) aufweist, Textfig. 45 einen solchen mit 24 Micro., von denen sich vier durch ihre Größe und lockere Anordnung des Chromatins auszeichnen und als ganz junge Placenten angesprochen werden müssen. Der Exconjugant der

Textfig. 46 besitzt 32 Micro., von denen acht typisches, die anderen das Aussehen von degenerierenden Kernen zeigen. In allen Fällen besitzt der normale Partner vier Micro., in Textfig. 45 zeigt einer die der ersten Teilung vorangehende Größenzunahme. Während diese Pärchen also alle am Anfang des Conjugationsprozesses stehen, zeigen zwei weitere, daß der Prozeß auch weitergeht. Bei einem



Fig. 45. *P. multi*. Wiederconjugant, frühes Stadium. Pl = Placenten.

Fig. 46. *P. multi*. Wiederconjugant, frühes Stadium.

von diesen hat der Exconjugant wahrscheinlich 16 Micro., bei dem normalen Partner ist der Macro. in wurstförmige Schlingen aufgelöst. Leider ist die Zahl der Micro. bei beiden Partnern nicht mit Sicherheit zu erkennen; der Macro. des Exconjuganten ist schon sehr zerfallen und eine Verwechslung von sehr kleinen Zerfallsbrocken mit Micro., besonders degenerierenden, ist sehr leicht möglich. Der normale Partner dürfte die dritte Syncaryonteilung durchgemacht haben, und die Mehrzahl der 16 Abkömmlinge schon der Degeneration anheimgefallen sein. Vier Micro. sind mit Sicherheit zu er-

kennen, jedoch zeigen noch keine von ihnen das Aussehen von Pronuclei. Diesem Präparat gegenüber zeigt Textfig. 47 ein klares Kernbild. Der Exconjugant besitzt 24 Micro., von denen vier etwas größer und typisch sind, die übrigen zeigen das Aussehen von degenerierenden Kernen. Der andere Partner zeigt einen Macro., der in dicke Schlingen aufgelöst ist und in der Gegend des Cytostoms einen großen, locker strukturierten Kern (Textfig. 47 a), in dem stärker gefärbte Pünktchen und kleine Fädchen ziemlich gleichmäßig verteilt sind. Aus einem Vergleich mit den LANDIS'schen Abbildungen (bes. 38) und Kernbildern von normalen Conjugationspärchen meiner eigenen Präparate muß ich schließen, daß es sich bei diesem Kern um das Syncarion handelt. Gegen die Deutung als Pronucleus spricht erstens die Größe, zweitens die lockere Anordnung des Chromatins, drittens die Abwesenheit des zweiten Pronucleus, der infolge seiner relativen Größe nicht übersehen werden kann und in anderen Präparaten auch stets gefunden wurde. In dem anderen Partner ist von einem ähnlichen Gebilde nichts zu sehen, obwohl auch hier ein Übersehen ausgeschlossen ist. Da sich

unter den Conjugationspärchen, deren einer Partner einen Kerneuerungsprozeß durchmacht, ein ähnliches Stadium findet, sollen zunächst diese besprochen werden.

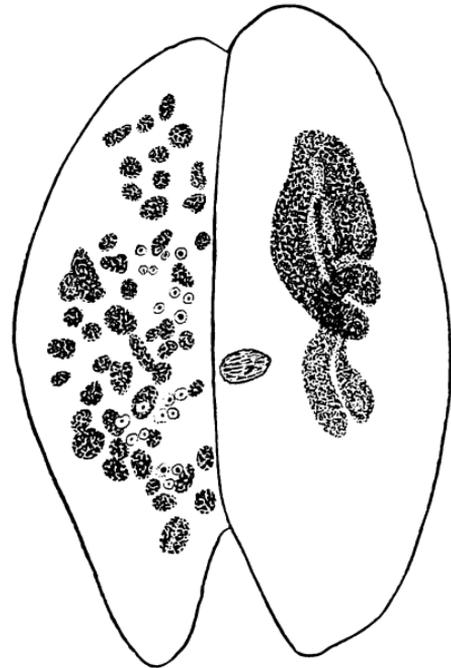


Fig. 47. *P. multi*. Wiederconjugant, „Syncarion“-Stadium. a Vergr. 1:1240.

Nach STRANGHÖNER erstreckt sich der Kerneuerungsprozeß bei *P. multimicronucleatum* über 9—10 Generationen. Sein Beginn kündigt sich dadurch an, daß das betreffende Tier sich 3—4 Tage lang nicht teilt. In dieser Zeit beginnt der Macro. sich aufzulösen, aber nicht, wie bei der Conjugation in wurstförmige Schlingen, sondern in 1—3 große und 6—15 kleine Brocken. Inzwischen haben sich die Micro. zwei- oder dreimal geteilt. Nach der ersten Teilung setzt sich der Zerfall des Macro. weiter fort, er erreicht seinen

Höhepunkt nach der fünften Teilung. In einem solchen Stadium sind 60—70 ungefähr gleich große Großkernbrocken vorhanden. Die Zahl der Micro. in allen diesen Stadien ist entweder vier oder acht (vor der Teilung). Auf dem Höhepunkt des Zerfalls erfolgt die Differenzierung in definitive Micro. und Placenten, zuerst vier Placenten mit vier und acht Micro., nach der nächsten Teilung zwei Placenten, nach der übernächsten eine Placente und wieder vier oder acht Micro. Nach dem achten Teilungsschritt ist der Kernapparat, abgesehen von einigen wenigen Brocken des alten Macro., wieder normal. Aus dieser Schilderung geht hervor, daß Tiere, die einen Kernerneuerungsprozeß durchmachen, auf Grund der Kernbildes von normalen Conjugationspartnern immer, von Exconjuganten sicher bis zum Stadium des größten Zerfalls, nach diesem möglicherweise auf Grund der Zahl der Micro. unterschieden werden können.

Textfig. 48 zeigt ein frühes Conjugationsstadium von einem normalen Partner mit drei Micro. und einem in Endomixis begriffenen mit einem großen und zwölf kleinen Macro.-Brocken, sowie vier typischen Micro.

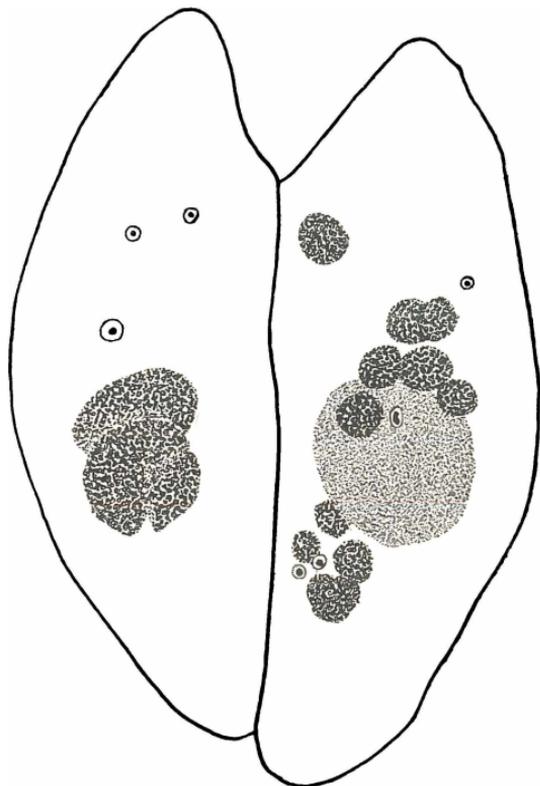


Fig. 48. *P. multi.* Endomixis-Conjugant, frühes Stadium.

Ein Vergleich mit den STRANGHÖNER'Schen Präparaten, die mir zur Verfügung standen, ergibt, daß es sich um ein Stadium kurz vor oder wahrscheinlicher kurz nach der ersten Teilung handelt. In Textfig. 49 ist ebenfalls ein frühes Conjugationsstadium dargestellt, dessen einer Partner vor dem Höhepunkt des Kernzerfalls steht. Es sind nur noch ein großer und ungefähr 65 kleinere Brocken vorhanden. Beide Partner besitzen je vier Micro. Ein um einen Schritt weiter fortgeschrittenes Conjugationsstadium zeigt Textfig. 50. Der normale Partner enthält bereits acht Micro. in dem charakteristischen

Bläschenstadium. Der andere Partner hat acht sehr schöne Micro. und stellt ein Stadium nach der dritten oder vierten Teilung dar. Textfig. 51 zeigt ein noch weiter fortgeschrittenes Stadium. Der Großkern des normalen Partners ist in wurstförmige Schlingen zerfallen, der Kleinkernapparat besteht aus zwei Kernen, die in der Nähe des Cytostoms liegen, einem relativ großen lockeren, der das Chromatin in fadenförmig angeordneten Körnchen enthält, und einem kleineren, der nur einige unregelmäßig angeordnete Chro-

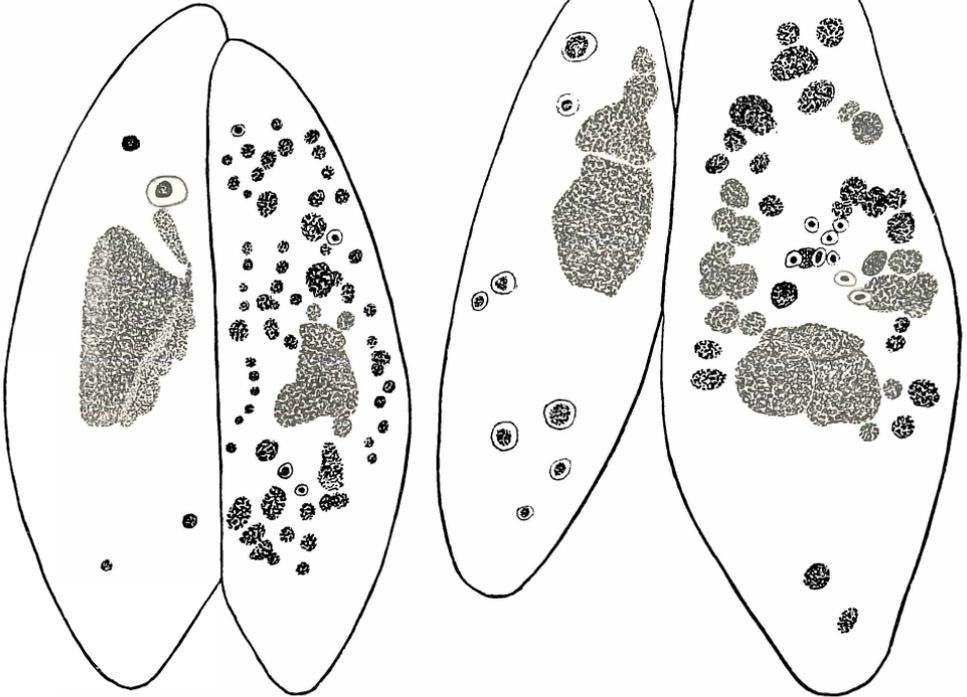


Fig. 49. *P. multi*. Endomixis-Conjugant, frühes Stadium.

Fig. 50. *P. multi*. Endomixis-Conjugant, erste Teilung der Micro. des normalen Partners.

matinkörnchen besitzt (Textfig. 51 a). Es liegt nahe, diese beiden Kerne als Pronuclei zu erklären, bei dem größeren, dem Stationärkern, besteht wohl auch kaum ein Zweifel, der andere hingegen ist, obwohl er in einer großen Kernmembran liegt, sehr klein und besitzt so wenig Chromatin, daß von ihm sehr wenig zu erkennen ist. Nach LANDIS ist normalerweise der Größenunterschied zwischen beiden Kernen (s. LANDIS Fig. 31 u. 34) nicht sehr erheblich, doch gibt er auch gerade für den Wanderkern eine im Verhältnis zu anderen Kernen zu große Kern-

membran als charakteristisch an: „the migratory pronucleus is smaller and does not fill its nuclear membrane so completely“ (s. LANDIS Fig. 33). Der andere Partner dürfte die zweite oder dritte Teilung beim Reorganisationsprozeß durchgemacht haben, jedenfalls steht er noch vor der Höhe des Zerfalls. Er besitzt vier Micro. vom normalen Typus, von pronucleusartigen Bildungen ist nichts zu bemerken.

Die Betrachtung der Conjugationsbilder in beiden Serien läßt erkennen, daß die Conjugation bei beiden Prozessen — Wiederconjugation und Conjugation von in Endomixis begriffenen Tieren — in gleicher Weise verläuft. Zunächst ist es nicht möglich, irgendwelche Aussagen über den Verlauf der Kernteilungen der Exconjuganten und der *Endomixis*-Tiere während der Dauer der Conjugation zu machen, da ja das Ausgangsstadium im Augenblick der Vereinigung unbekannt ist. Beim normalen Tier zeigt im Verlauf des Prozesses Textfig. 50 ein Stadium der ersten Micro.-Teilung, bei der die Micro. eine Vergrößerung und Auflockerung des Chromatins erfahren, Textfig. 51 ein Stadium der Pronucleusbildung. Von der zweiten Micro.-Teilung habe ich kein Bild zu Gesicht bekommen. Demgegenüber zeigen die Exconjuganten und *Endomixis*-Tiere stets das normale Bild der Micro.: ein kleines Chromatinkügelchen, umgeben von einem Hof. Spezielle Kerndifferenzierungen sind in keinem Falle zu sehen, der Pronucleusbildung des anderen Partners gegenüber verhalten sie sich vollständig passiv, von den vier Micro. der Textfig. 51 liegt keiner in der Nähe des Cytostoms. Was geschieht also in diesem Falle mit den beiden Pronuclei des normalen Tieres? Wie schon erwähnt, gleicht der Kern der Textfig. 47 einem Syncaryon, es können also zwei Möglichkeiten vorliegen: entweder sind die beiden Pronuclei

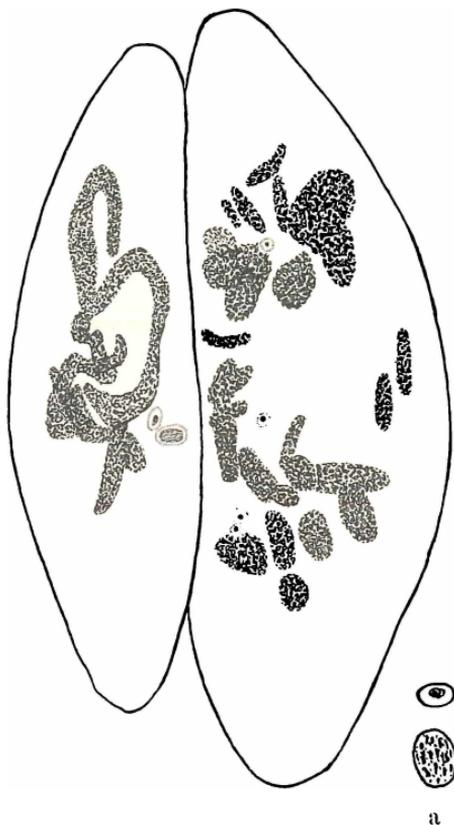


Fig. 51. *P. multi*. *Endomixis*-Conjugant, Pronucleusstadium des normalen Partners.
a Vergr. 1:1240.

desselben Partners verschmolzen, oder es ist ein Pronucleus, vermutlich der größere, enorm herangewachsen, während der andere degeneriert ist. Im ersten Falle würde das Syncaryon als diploid, im zweiten als haploid zu betrachten sein, hier läge Parthenogenese, dort Autogamie vor. Eine klare Entscheidung zwischen beiden Möglichkeiten lassen die Präparate nicht zu, jedoch ist die erste Möglichkeit die wahrscheinlichere.

Für die zweite Möglichkeit habe ich bei der Durchsicht der Literatur ein Beispiel gefunden. MAUPAS gibt an, daß bei *Euplotes patella* gegen Ende einer langen Conjugationsperiode Tiere, die kein Cytostom und keine adorale Wimperzone gebildet haben, auftraten; auch diese gingen eine Conjugation ein, obwohl ein Kernaustausch und eine wechselseitige Befruchtung unmöglich war. Er bildet in seiner Fig. 35 ein Pärchen ab, das aus einem solchen und einem normalen Tier mit Cytostom und Wimperzone besteht. Über den anormalen Partner sagt er: „ce défaut de fécondation n'empêche pas le pronucleus femelle de commencer à continuer seul son évolution.“ Auch die erste und zweite Teilung dieses haploiden Stationärkernes konnte MAUPAS beobachten, dann gingen allerdings die Partner ein. Im Gegensatz dazu gibt R. HERTWIG (1914) an, daß bei seinen Versuchen, Conjugationspärchen zu trennen, die Tiere sich normal ohne Kernveränderung weiter entwickeln, wenn sie im Anfang der Conjugation vor der ersten Micro.-Teilung getrennt wurden, daß sie aber zugrunde gehen, „wenn die durch die Conjugation eingeleiteten Kernveränderungen weit fortgeschritten sind; daraus würde folgen, daß die durch Conjugation hervorgerufenen Reifevorgänge der Nebenerkerne nicht geeignet sind, eine parthenogenetische Entwicklung herbeizuführen“. Es fragt sich allerdings, ob die Nichtweiterentwicklung wirklich auf der Unfähigkeit der Kerne zu parthenogenetischer oder autogamer Entwicklung beruht, oder vielmehr durch die bei der Durchtrennung entstandenen mechanischen Verletzungen bedingt ist. Jedenfalls zeigen diese Versuche HERTWIG'S, daß eine Entscheidung der Frage nach der Weiterentwicklung der Kerne in Halbconjuganten bei normalen Partnern nicht möglich ist. Anders als HERTWIG an *Paramaecien* findet CALKINS bei *Uroleptus mobilis*, daß solche „Pseudoconjuganten, wenn sie kurz nach Vereinigung getrennt werden, die Kernentwicklung in gleicher Weise wie Conjugationspartner durchlaufen“. CALKINS folgert daraus: „The experiments indicate that metamorphosis of the nuclei and cell is an all-or-none-phenomenon, which once started goes through to the end of reorganization whether the companion-cell is associated with it or

not.“ Es liegen also bei diesen Pseudoconjuganten von *Uroleptus* dieselben Verhältnisse vor wie bei den Wiederconjuganten von *P. multimicronucleatum*; auf welche Weise die Weiterentwicklung der Kerne bei *Uroleptus mobilis* erfolgt, hat CALKINS nicht festgestellt.

Es erhebt sich nun die Frage, worin der Unterschied in dem von KLITZKE für Wiederconjuganten von *P. caudatum* beschriebenen Conjugationsverlauf und diesem für Wiederconjuganten und *Endomixis*-Conjuganten begründet liegt. Vor allem ist hier auf den Unterschied in den Entwicklungsstadien, in denen sich die Exconjuganten bei Beginn der neuen Conjugation befinden, hinzuweisen. Bei *P. multimicronucleatum* befinden sich die Exconjuganten noch alle in dem Stadium des Aufbaus des neuen Kernapparats, eine Differenzierung in definitive Micro. und Placenten hat noch nicht stattgefunden, die prospektive Bedeutung der einzelnen Kerne (s. Teil I) ist noch nicht festgelegt. Bei den von KLITZKE beschriebenen Tieren hingegen ist wenigstens der Micro.-Apparat schon wieder vollständig aufgebaut, es ist ein funktionierender Micro. (von Ausnahmen abgesehen, s. Teil I) vorhanden, der die Kernteilungen und Differenzierungen, wie sie bei der Conjugation vor sich gehen, unternehmen kann. Die Bedeutung des Macro.-Apparats bei der Conjugation ist, wie wir wissen, eine sekundäre und hier in beiden Fällen sicher nicht von ausschlaggebender Bedeutung; aber auch hierin zeigt *P. caudatum* schon normalere Verhältnisse.

Die im Reorganisationsprozeß befindlichen Tiere bilden normalerweise keine differenzierten Kerne (Pronuclei) aus, es darf aus ihrem Verhalten bei der Conjugation geschlossen werden, daß sie auch während der *Endomixis* eine solche Potenz nicht realisieren. Dasselbe ist auch von den Exconjuganten vor dem Stadium der Differenzierung in Micro. und Placenten zu sagen. Daraus ergeben sich aber zwei Folgerungen über die Bedeutung dieser Conjugation: entweder verläuft der ganze Vorgang für den Exconjuganten bzw. den *Endomixis*-Partner überhaupt vollständig passiv, oder aber es spielt bei der Conjugation für diese Partner außer dem Kernaustausch, der hier also nicht vorhanden ist, noch ein anderer Faktor eine Rolle. Dem normalen Partner gibt in beiden Fällen die Conjugation mit einem völlig oder wenigstens in bezug auf den Kernaustausch indifferenten Partner den Anlaß, spezielle Kernteilungen auszuführen (Pronuclei zu bilden), ohne daß er dabei freilich seine eigentliche Aufgabe, die Syncaryonbildung, ausführen kann. Der zweite Faktor ist im letzten Falle für ihn natürlich in gleicher Weise wie bei seinem Partner wirksam. Mit anderen Worten heißt das aber: ent-

weder geht der normale Partner die Conjugation ein, um die Möglichkeit zur Pronucleusbildung zu erhalten, während sich der andere Partner völlig passiv verhält, oder aber die Conjugation wird von beiden Partnern aktiv eingegangen und die normalerweise bei der Conjugation stattfindende gegenseitige Erneuerung des Kernapparats hat nur sekundäre Bedeutung, die Conjugation wird von beiden Partnern aus irgendeinem anderen Grunde herbeigeführt. Nun hat ja nach der neueren Ansicht der Protistenforscher (s. bes. WOODRUFF (1925)) die Conjugation eine doppelte Bedeutung: Schaffung neuer Biotypen und Herstellung einer erhöhten Anpassungsfähigkeit an Umweltbedingungen, früher spezieller als Verjüngung bezeichnet. CALKINS hat an *Uroleptus mobilis*¹⁾ nachweisen können, daß der zweite Faktor von dem Vorgang des Kernaustausches nicht abhängt, daß vielmehr die Rekonstruktion des Macro. aus dem Micro. allein zur Herstellung einer erhöhten Anpassungsfähigkeit genügt. Dem Kernaustausch kommt somit lediglich die Aufgabe der Schaffung neuer Biotypen zu. Der *Endomixis* wird ebenfalls (nach CHEYFEC (1930), STRANGHÖNER) die Bedeutung der Herstellung einer erhöhten Anpassungsfähigkeit zugeschrieben, die auf einer Veränderung des Kerngleichgewichts beruht. Nehmen wir also an, daß bei unseren Wiederconjuganten die Conjugation aus diesem Grunde eingegangen worden ist, so würden bei den *Endomixis*-Conjuganten sich zwei Prozesse an der Herstellung besserer Lebensbedingungen beteiligen, die Conjugation würde der *Endomixis* nur gewissermaßen übergeordnet sein. Bei den Ex-Wiederconjuganten würde die zweite Conjugation ebenfalls denselben Prozeß noch einmal wiederholen. Man sollte also erwarten, daß der Gesamtprozeß, beruhend auf der Rekonstruktion des Macro. aus dem Micro., durch die Wiederconjugation beschleunigt würde. Das ist aber weder bei *Endomixis*-Tieren, noch bei Exconjuganten der Fall; denn bei beiden (*Endomixis*-Tieren nach der ersten Teilung) ist die Zertrümmerung des alten Kernapparates bereits erfolgt und der Aufbau des neuen begonnen, die Conjugation kann dabei nicht beschleunigen, höchstens hemmen. Lediglich, wenn man die Zertrümmerung des alten Macro. als allein

¹ Die Vereinigung von zwei Tieren bei der Conjugation geschieht an ihrer vorderen Spitze, dort werden die Pronuclei ausgetauscht. CALKINS schnitt nach der Bildung derselben, aber vor dem Austausch, die vereinigten Spitzen ab, so daß kein Austausch stattfinden konnte. Die Tiere regenerierten in vielen Fällen, wobei der neue Kernapparat, wie, ist nicht untersucht, aus dem alten des eigenen Tieres gebildet wurde, und zeigten Nichtconjuganten gegenüber eine größere Teilungsrate und Lebensdauer.

wesentlich ansehen würde, so könnte dieser Prozeß bei den *Endomixis*-Tieren, nicht bei den Exconjuganten, durch die Conjugation eine Beschleunigung erfahren.

Erscheint somit aus theoretischen Gründen die Annahme einer aktiven Beteiligung der *Endomixis*-Tiere und Exconjuganten an der Wiederconjugation sehr fraglich, so sprechen die praktischen Befunde geradezu gegen diese Ansicht. Wie schon erwähnt, wurde kein einziges Mal Wiederconjugation von zwei Exconjuganten oder zwei *Endomixis*-Tieren beobachtet; vielleicht war das Material zu gering, aber es ist doch sehr unwahrscheinlich, daß, wenn eine solche Kombination möglich und der anderen gleichberechtigt wäre, sie unter 40 Pärchen nicht ein einziges Mal auftreten sollte. Ich folgere vielmehr aus dieser Tatsache, daß die Wiederconjugation von den Exconjuganten und *Endomixis*-Tieren nicht aktiv eingegangen worden ist, daß sie vielmehr von den Partnern mit normalem Kernapparat, die aus einem oder beiden Gründen physiologisch zur Conjugation gestimmt waren, rein äußerlich zur Conjugation veranlaßt worden sind. Hierfür läßt sich auch die Tatsache anführen, daß fast alle Wiederconjuganten ganz im Anfang der Conjugation stehen, obwohl in gleichmäßigen Abständen, sowohl bei isolierten Tieren als auch bei den Massenfixierungen, fixiert wurde. Es geht hieraus hervor, daß die Mehrzahl aller Wiederconjuganten nur kurze Zeit vereinigt bleibt und sich vor der ersten Teilung der Micro. schon wieder trennt, und daß die Conjugation nur in seltenen Fällen vollständig durchgeführt wird. Alles dieses spricht dafür, daß die Wiederconjugation nur von einer Seite, der des normalen Tieres, aktiv eingegangen wird.

c) Conjugation von Tieren von *P. multimicronucleatum*
mit solchen von *P. caudatum*.

Es wurde schon erwähnt, daß die Isolierungsmethode die gewünschte Kreuzung zwischen *P. multimicronucleatum* und *P. caudatum* nicht lieferte; alle untersuchten Pärchen waren Wiederconjuganten, jedoch befanden sich unter dem Material, das durch Massenfixierungen gewonnen war, einige solche Kombinationen, außerdem einige andere Pärchen, bei denen die Entscheidung, ob es sich um normale Conjugationen oder Kreuzungen handelt, nicht einfach und eindeutig zu entscheiden ist.

Es sollen zunächst die Unterschiede in den Kernbildern beider Arten während der Conjugation in Erinnerung gebracht werden. Bei *P. caudatum* ist an dem Großkern während der Dauer der Vereinigung kaum eine Veränderung wahrzunehmen; er behält seine

Form bis zur Trennung der Partner bei. Der Großkern von *P. multimicronucleatum* hingegen lockert sich bei Beginn der ersten Teilung der Micro. auf und zerfällt bis zum Stadium des Kernaustausches in wurstförmige Schlingen, die sich nach erfolgtem Austausch noch weiter auflösen. In dem jungen Exconjuganten ist die Auflösung bis in kleine runde Brocken erfolgt. In der Mehrzahl der Fälle ist der Macro. von *P. multimicronucleatum* etwas größer als der von *P. caudatum*, jedoch sind bei beiden Arten die Schwankungen darin so groß, daß im Extremum die umgekehrten Verhältnisse wie im Mittel auftreten können. Ein sicheres Unterscheidungsmerkmal ist die Größe des Macro. also nicht. Die Zerfallsbilder lassen erkennen, daß eine Unterscheidung beider Arten auf Grund des Großkernbildes vor der ersten Micro.-Teilung von *P. multimicronucleatum* nicht, nach der ersten Teilung immer möglich ist. Der Kleinkern von *P. caudatum* teilt sich bis zur Ausbildung von Stationär- und Wanderkern zweimal. Von diesen vier Kernen gehen drei zugrunde, und einer liefert die Pronuclei. Die Kleinkerne von

P. multimicronucleatum, im normalen Tier und im Exconjuganten wegen der erheblichen Größendifferenz von *P. caudatum* mit Leichtigkeit zu unterscheiden (s. Textfig. 52), vergrößern sich vor der ersten Teilung ganz enorm (LANDIS Fig. 14); das Chromatin wird aufgelockert, und der typische Hof kann verschwinden. In diesem Stadium erreichen die Kerne die Größe und das Aussehen normaler Micro. von *P. caudatum*, und zwar können sie Ruhekernen von *P. caudatum* aller Stadien bis zur Bildung der Pronuclei gleichen. Nach der ersten Teilung werden sie wieder kleiner und sind mit solchen von *P. caudatum* nicht mehr zu verwechseln. Hat man also ein Stadium mit nicht zerfallenem Großkern und vier großen Kleinkernen vor sich, so ist es ohne weiteres nicht möglich, anzugeben, ob es sich um *P. multimicronucleatum* oder *P. caudatum* handelt. Dieses ist aber gerade das Stadium, das bei einer Kombination von *P. multimicronucleatum* und *P. caudatum* am häufigsten auftreten wird, denn man muß von vornherein auch die Möglichkeit in Betracht ziehen, daß ebenso wie bei den Wiederconjuganten, die Mehrzahl der vereinigten Partner sich nach kurzer Zeit wieder trennen wird. Auch Stadien mit weniger als vier großen Kernen wird man nicht ohne weiteres *P. caudatum* zurechnen dürfen, da mit der Möglichkeit gerechnet werden muß, daß bei *P. multimicronucleatum* die Vergrößerung der Micro. nicht gleichzeitig vor sich geht, sondern daß einer, zwei oder drei den übrigen darin vor-



P. caud. *P. multi.*
Fig. 52. Kleinkerne im
Ruhestadium.
Vergr. 1:1240.

Stadium erreichen die Kerne die Größe und das Aussehen normaler Micro. von *P. caudatum*, und zwar können sie Ruhekernen von *P. caudatum* aller Stadien bis zur Bildung der Pronuclei gleichen. Nach der ersten Teilung werden sie wieder kleiner und sind mit solchen von *P. caudatum* nicht mehr zu verwechseln. Hat man also ein Stadium mit nicht zerfallenem Großkern und vier großen Kleinkernen vor sich, so ist es ohne weiteres nicht möglich, anzugeben, ob es sich um *P. multimicronucleatum* oder *P. caudatum* handelt. Dieses ist aber gerade das Stadium, das bei einer Kombination von *P. multimicronucleatum* und *P. caudatum* am häufigsten auftreten wird, denn man muß von vornherein auch die Möglichkeit in Betracht ziehen, daß ebenso wie bei den Wiederconjuganten, die Mehrzahl der vereinigten Partner sich nach kurzer Zeit wieder trennen wird. Auch Stadien mit weniger als vier großen Kernen wird man nicht ohne weiteres *P. caudatum* zurechnen dürfen, da mit der Möglichkeit gerechnet werden muß, daß bei *P. multimicronucleatum* die Vergrößerung der Micro. nicht gleichzeitig vor sich geht, sondern daß einer, zwei oder drei den übrigen darin vor-

aus sind. In diesen Fällen wird die Entscheidung nur dann eindeutig sein, wenn die übrigen kleinen Micro. einwandfrei vorhanden sind. Dazu kommt noch, daß in vielen Fällen die bläschenförmigen Kerne von *P. multimicronucleatum* prall gefüllten Nahrungsvakuolen, die färbbare Einschlüsse enthalten, sehr ähnlich sehen. Diese Angaben zeigen, daß eine Unterscheidung beider Arten in den Frühstadien der Conjugation nicht ganz einfach ist; sehr viel leichter ist dies, wenn der Zerfall des Macro. in einem Partner bereits eingesetzt hat, und die erste Teilung der Micro. desselben bereits beendet ist. Von diesem Typus sind zwei Pärchen vorhanden, sie sollen daher zuerst besprochen werden.

Textfig. 53 stellt ein solches Pärchen dar. Das Präparat wurde leider bei einer Beobachtung gedrückt, bevor es

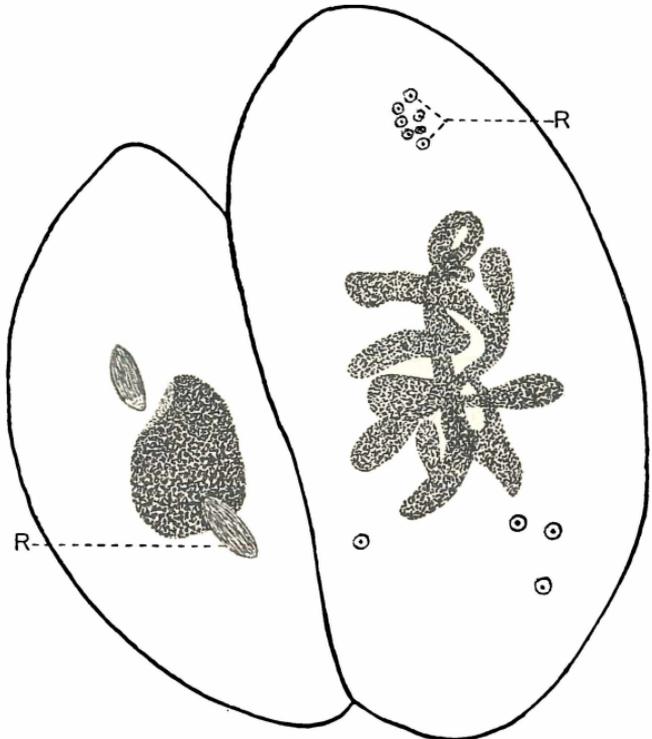


Fig. 53. Conjugationspärchen aus *P. caud.* und *P. multi.*

R = rekonstruiert.

genau gezeichnet war, es mußten daher einige Teile rekonstruiert werden. Der Großkern des einen Partners, *P. multimicronucleatum*, ist in wurstförmige Schlingen aufgelöst, und es sind elf typische Micro. vorhanden. Das Tier hat also die zweite Micro.-Teilung ausgeführt und ein Teil der Micro. ist bereits degeneriert; Reste davon waren im Präparat, bevor es gedrückt wurde, noch zu erkennen. Eine Differenzierung in Pronuclei ist noch nicht erfolgt. Der andere Partner zeigt einen normalen Großkern und zwei typische Micronucleusspindeln, von denen die eine auch jetzt noch vollkommen unversehrt ist, so daß kein Zweifel sein kann, daß es sich um *P. caudatum* handelt. Die Micro. schicken sich hier zur zweiten Teilung an, der andere Partner

ist hierin demnach etwas voraus. In diesem Präparat zeigen die beiden Partner auch den in den meisten Fällen festzustellenden Größenunterschied. Das andere Pärchen (Textfig. 54) zeigt keinen solchen Größenunterschied der Partner; der Großkern des einen ist ebenfalls wieder aufgelöst, an Micro. ist nur ein großer mit Hof und zwei weitere in dessen Nähe ohne Hof vorhanden. Es dürfte sich ebenfalls um ein Stadium nach der zweiten Micro.-Teilung handeln, wo die Mehrzahl der Micro. schon wieder degeneriert ist. Der eine

typische Micro. wäre demnach als soeben differenzierter Pronucleus, und seiner Größe nach als Stationärkern anzusehen, während einer der beiden anderen den Wanderkern liefern würde; ihre Lage zueinander deutet an, daß sie durch Teilung aus einem Mutterkern hervorgegangen

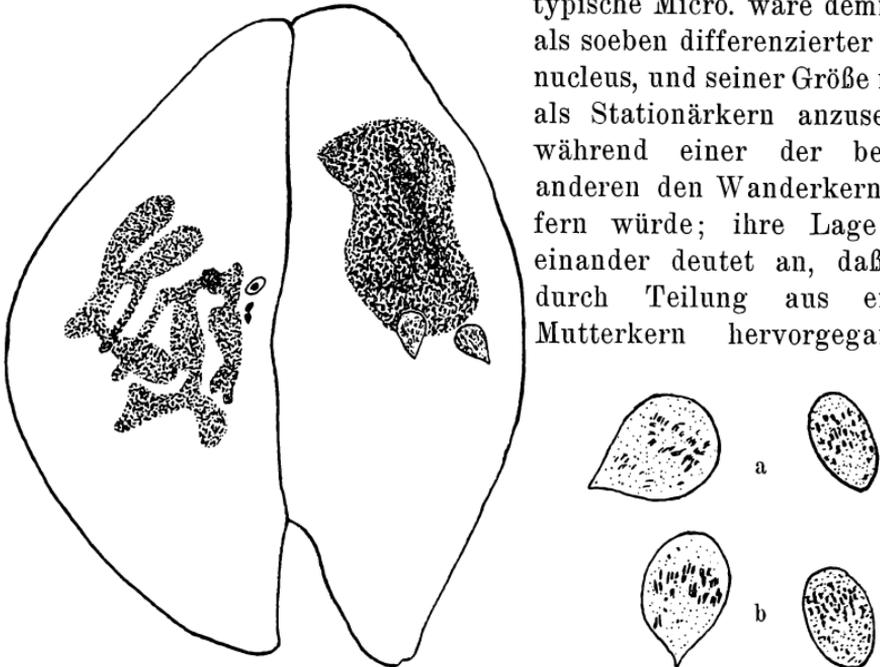


Fig. 54. Conjugationspärchen aus *P. multi*. und *P. caud.*
a Total. b Schnitt. Vergr. 1 : 1240.

sind. Der andere Partner bietet kein ganz so eindeutiges Kernbild. Der ziemlich große Macro. hat regelmäßige Gestalt, ihm liegen benachbart, teilweise ihn überdeckend, zwei bläschenförmige Kerne an, die beide in eine Spitze ausgezogen sind. Das Chromatin ist sehr locker angeordnet, man unterscheidet (Textfig. 54 a) in jedem einen unregelmäßig geformten Kranz von Chromatinstäbchen; ein Hof fehlt. Es könnte sich also einmal um *P. caudatum* auf dem Stadium nach der ersten Micro.-Teilung, oder um *P. multi-micronucleatum* handeln, entweder vor der ersten Micro.-Teilung, wenn diese beiden Kerne den anderen im Prozeß der Chromatinauflockerung voraus sind, oder nach der ersten Teilung, wenn ein Kern den anderen vorausgeeilt ist. Es müßten dann einmal also noch zwei

kleine typische Kerne, im anderen Falle drei vorhanden sein. Schließlich muß noch die Möglichkeit berücksichtigt werden, daß ein Partner von *P. multimicronucleatum*, der im vegetativen Zustand weniger als vier, z. B. zwei Micro. hat, vorliegt. Dann würden im ersten Falle keine, im zweiten noch mindestens ein Micro. zu finden sein. Daß der zweite Fall vorliegt, ist schon sehr unwahrscheinlich, es müßte dann der eine Kern seinen Geschwistern in der Entwicklung um einige Stunden voraus sein, bei einer Dauer des Gesamtprozesses von 12—14 Stunden. Um das Vorhandensein weiterer Micro. feststellen zu können, wurde das Präparat, nachdem eine genaue Zeichnung angefertigt war, aufgelöst, geschnitten und mit Eisenhämatoxylin gefärbt. Die Durchsicht der Schnitte ergab, daß weitere Micro. nicht vorhanden sind. Daraus folgt, daß, falls es sich um *P. multimicronucleatum* handelt, nur ein Stadium mit zwei Micro. im vegetativen Zustand vor der ersten Teilung vorliegen kann. Die beiden großen Kleinkerne sind in Textfig. 54 a total und in b im Schnitt bei gleicher Vergrößerung dargestellt. Die Kernbilder können ebensogut für *P. multimicronucleatum* vor der ersten Teilung (s. LANDIS Fig. 8 u. 9) als auch für *P. caudatum* nach der ersten Teilung (s. CALKINS Fig. 41—52) in Anspruch genommen werden. Kann man so zu einer sicheren Entscheidung der Frage auf Grund der Kernbilder der Micro. allein nicht kommen, so spricht die Beschaffenheit des Macro. dieses Partners entschieden zugunsten von *P. caudatum*. Es ist weder von LANDIS noch von mir ein einziges Mal für zwei Partner von *P. multimicronucleatum* eine so große Differenz in den Stadien der Auflösung der Macro., wie sie hier vorliegen würde, beobachtet worden. Dazu würde eine ebenso große Differenz in den Stadien der Micro.-Teilungen kommen: der eine Partner hätte die zweite Teilung längst beendet, der andere die erste noch nicht begonnen. Alles dies spricht gegen die Deutung als normales Pärchen von *P. multimicronucleatum*, es erhebt diejenige als Kombination von *P. multimicronucleatum* und *P. caudatum*, besonders auch, wenn man dieses Pärchen mit dem vorigen vergleicht, von der Wahrscheinlichkeit fast bis zur Gewißheit.

Das nächste Pärchen (Textfig. 55) stellt eine Wiederconjugation dar; der Exconjugant zeigt drei typische Micro. von *P. multimicronucleatum*, der normale Partner einen nichtzerfallenen Großkern und einen relativ sehr großen Kleinkern mit lockerer, fadenförmiger Chromatinanordnung, der in Textfig. 55 a vergrößert wiedergegeben ist. Er kann auf Grund seiner Größe und seiner Spindelnatur ohne Bedenken *P. caudatum* zugerechnet werden; es handelt sich also

hier um eine Kombination eines normalen Partners von *P. caudatum* mit einem Exconjuganten von *P. multimicronucleatum*.

Dann liegen mir noch mehrere Wiederconjuganten vor, deren Exconjugant *P. multimicronucleatum* ist, und deren normaler Partner einen nichtzerfallenen Großkern und in dessen Nähe ein großes, rundes, kernähnliches Gebilde von merkwürdigem Aussehen besitzt.

Der betreffende Körper zeigt sowohl im Totalpräparat als auch im Schnitt nach Färbung mit Eisenhämatoxylin nur wenig gefärbtes Material.

Ich bilde in Textfig. 56 a einen solchen in Schnitt ab. Es kann sich möglicherweise um einen Ruhekern von *P. caudatum*, der, nach dem geringen Chromatiergehalt zu urteilen, der Dege-

neration anheimgefallen ist, besonders, da auch keine typischen Micro. von *P. multimicronucleatum* gefunden wurden, handeln, oder um eine Nahrungsvaku-

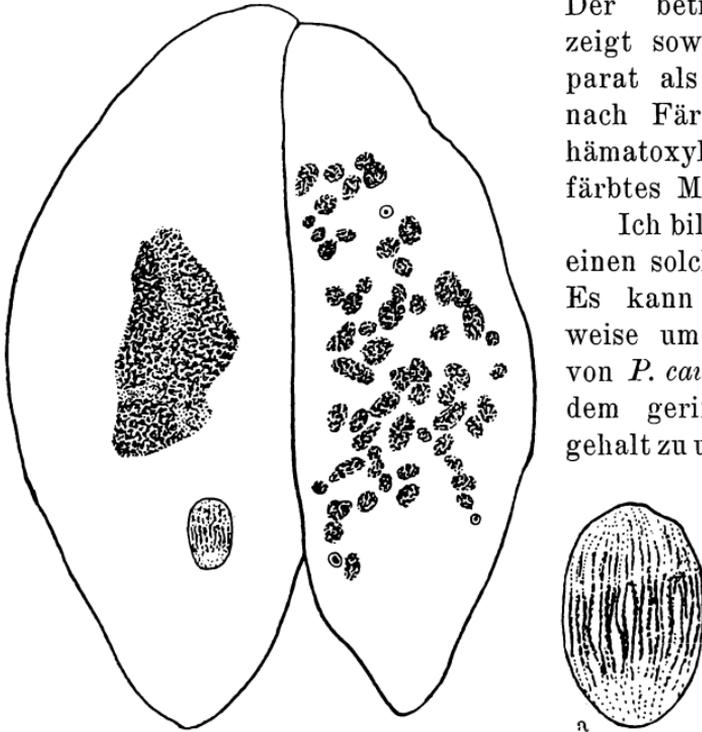


Fig. 55. Conjugationspärchen aus *P. caud.* und einem Exconjuganten von *P. multi.* a Vergr. 1:1240.

ole mit kompaktem, färbbarem Inhalt, oder schließlich um Abbau- material des Großkernes. Die zweite Möglichkeit läßt sich ziemlich leicht ausschließen: einmal zeigen N. V., wenn sie färbbare Einschlüsse enthalten, distinkte Partikel in einer ganz schwach gefärbten Grundsubstanz (Textfig. 56 c), dann aber spricht das Vorhandensein der Gebilde in Einzahl (andere N. V. sind in keinem Präparat zu finden) und ihre Lage in unmittelbarer Nachbarschaft des Großkernes sehr gegen die Deutung als N. V. Daß vom Großkern von *P. multimicronucleatum* Stücke von der Größe eines Micro. von *P. caudatum* abgestoßen werden, habe ich in vielen Präparaten, ebenso wie LANDIS, gefunden, allerdings sind diese Absplitterungen meistens nicht rund und immer gut gefärbt. Immerhin ist es

denkbar, daß solche Stücke des Großkernes, wenn sie zugrunde gehen, sich abkugeln und ihr Chromatin einbüßen. Ruhekerne (Micro.) von *P. caudatum* zeichnen sich durch großen Chromatinreichtum aus, nur in seltenen Ausnahmen findet man solche Kerne, die sich im Totalpräparat sehr schwach färben. Ein solcher ist im Schnitt in Textfig. 56 b dargestellt. Die Ähnlichkeit mit Textfig. 56 a liegt auf der Hand. Jedoch muß darauf hingewiesen werden, daß schwach gefärbte Ruhekerne in normalen Pärchen äußerst selten sind, und daß in allen diesen Präparaten die fraglichen Gebilde so äußerst schwach gefärbt sind. Es wäre möglich, daß infolge der Conjugation mit einem artfremden Partner die Kerne physiologisch degenerieren; ob das der Fall ist, können erst umfangreiche Untersuchungen zeigen, vorläufig müssen diese Pärchen als nicht analysierbar vermerkt werden.

Zusammenfassend läßt sich also sagen, daß in drei Fällen untereinigen tausend Conjugationspärchen eine Conjugation zwischen *P. multimicronucleatum* und *P. caudatum* gefunden

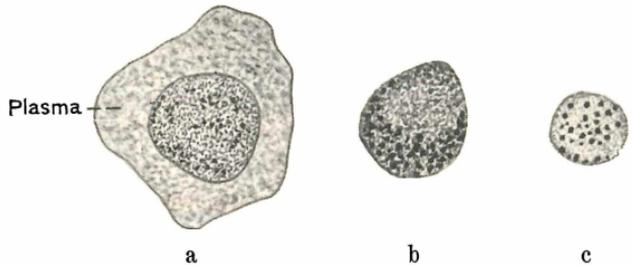


Fig. 56. Vergr. 1 : 1240.

wurde, und daß diese Pärchen die ersten Schritte im Kernentwicklungsprozeß vollendet haben. Damit ist die Möglichkeit einer solchen Kreuzung gegeben, und die Existenz von Exconjuganten, also Bastarden, in Aussicht gestellt, sowie der Weg für eine Analyse der Vererbungsverhältnisse bei artfremden Bastarden unter den Protozoen gewiesen. Der Rahmen weiterer Untersuchungen ist vorgezeichnet: es müssen Tiere derjenigen Art, die in einer oder in allen Conjugationsperioden einer Versuchsgruppe nicht zur Wiederconjugation neigen, vital gefärbt, und die dann eindeutig erkennbaren Pärchen aus zwei artungleichen Partnern isoliert, aufgezogen, und die Kernverhältnisse in den Exconjuganten ermittelt werden.

Zusammenfassung.

1. Die Exconjuganten von *P. multimicronucleatum* zeigen im Gegensatz zu den Angaben von LANDIS eine große Plastizität im Aufbau des Kernapparates. Die Variationsbreite in der Zahl der neuen Micro. und Placenten ist eine außerordentlich große; die Zahl

der angelegten Placenten beträgt 2—14, die der Micro. bis zu 28. Den von LANDIS beschriebenen Typus weisen durchschnittlich 61,5 Proz. der Tiere, wenigstens in der Zahl der Placenten, auf. Da diese Zahl in verschiedenen Kulturen und zu verschiedenen Zeiten erheblich schwankt, ist der Einfluß von Außenfaktoren sehr wahrscheinlich. Die Angaben von POWERS und MITCHELL über eine unregelmäßige Zahl von Micro. in den vegetativen Tieren werden auf diese Weise an anderem Material bestätigt.

2. a) *P. multimicronucleatum* und *P. caudatum* lassen sich physiologisch voneinander unterscheiden. Sie zeigen unterschiedliches Verhalten gegenüber Vitalfarbstoffen und Giften, sowohl gegen tödliche Konzentrationen, als auch in ihrer Teilungsrate gegenüber untertödlichen Konzentrationen, sowie gegen erhöhte Wärmezufuhr. Dabei nimmt *P. multimicronucleatum* größere Mengen des Reizstoffes auf, wird stärker gefärbt und erliegt der schädigenden Wirkung des Giftes schneller als *P. caudatum*. In gleicher Weise ist auch die Änderung der Teilungsrate auf dieselben Reize hin bei *P. multimicronucleatum* größer als bei *P. caudatum*. Das Verhalten gegen Wärme ist umgekehrt: *P. caudatum* stirbt bei erhöhter Temperatur schneller ab und reagiert auch in der Teilungsrate stärker als *P. multimicronucleatum*. *P. multimicronucleatum* vermag in einem größeren pH-Bereich zu leben als *P. caudatum*.

b) Bei den Färbungsversuchen wurde die Entstehung und Auflösung vital gefärbter Granula nach Einwirkung basischer Farbstoffe beobachtet, und damit die Beispiele, die der herrschenden Auffassung von der Speicherung basischer Farbstoffe entgegenstehen, um eins vermehrt.

c) Bei beiden Paramäcienarten besteht eine axiale Differenzierung in dem Speicherungsvermögen von Neutralrot; das Vorderende ist besonders ausgezeichnet.

d) Bei zwei Diffusfärbern (Akridingelb und Sudan III) wurde die Bildung von Exkretvakuolen und -kristallen des Farbstoffes beobachtet, und die Entfernung der Kristalle durch die Pellicula festgestellt.

e) Die Wirkung von Vitalfarbstoffen und Giften ist ebenso wie von der Wasserstoffionenkonzentration vom Ernährungszustand der Tiere in hohem Maße abhängig.

3. a) Bei *P. multimicronucleatum* treten Conjugationspärchen auf, die aus einem normalen Tier und einem Exconjuganten oder einem im Kernerneuerungsprozeß befindlichen Tier bestehen. In beiden Fällen verläuft die Conjugation in den letzteren völlig passiv,

während der normale Partner seine Kernteilungen durchführt und Pronuclei bildet. Die Weiterentwicklung verläuft wahrscheinlich autogam, möglicherweise haploid parthenogenetisch.

b) Conjugationsperioden lassen sich bei beiden Arten experimentell durch Zugabe von aq. dest. erzeugen.

c) In ganz wenigen Fällen conjugieren Tiere beider Arten miteinander. Der Kernentwicklungsprozeß verläuft normal, die Möglichkeit einer Kreuzung zwischen *P. multimicronucleatum* und *P. caudatum* ist damit gegeben.

Literaturverzeichnis.

- BALL (1923—1925): Studies on Paramaecium. I u. II. Univ. Calif. Publ. Zool. Vol. 26.
- (1927): Studies on Paramaecium. III. Biol. Bull. Vol. 52.
- BARRAT (1904): Die Wirkung von Säuren und Basen auf lebende Paramaecien. Zeitschr. allgem. Phys. Bd. 4.
- BĚLAŘ (1926): Der Formwechsel der Protistenkerne. Ergebn. u. Fortschr. d. Zool. Bd. 6.
- BENOIST, GOLBLIN KOPACZEWSKI (1927): Etudes sur les phénomènes électro-capillaires. VII. Protoplasma Bd. 5.
- BHATIA (1923): On the significance of extra contractile vacuoles in Paramaecium caudatum. Journ. of the Roy. Microscop. Society.
- BILLS (1924): Some effects of the lower alcohols on Paramaecium. Biol. Bull. Vol. 47.
- BODINE (1921): Hydrogen-ion concentration of Protozoan cultures. Biol. Bull. Vol. 41.
- BOZLER (1924): Über die Morphologie der Ernährungsorganellen und die Physiologie der Nahrungsaufnahme von Paramaecium caudatum. Arch. f. Protistenk. Bd. 49.
- BRESSLAU (1921): Die Gelatinierbarkeit des Protoplasmas als Grundlage eines Verfahrens zur Schnellanfertigung von gefärbten Dauerpräparaten von Infusorien. Arch. f. Protistenk. Bd. 43.
- CALKINS (1904): Studies on the Life-History of Protozoa. IV. Journ. exp. Zool. Vol. 1.
- CHILD and DEVINEY (1925): Contributions to the Physiology of Paramaecium caudatum. Journ. exp. Zool. Vol. 43.
- CHLOPIN (1927): Studien über Gewebekulturen in artfremdem Blutplasma. Arch. f. exp. Zellforsch. Bd. 1.
- DOFLEIN (1929): Lehrbuch der Protozoenkunde. (Jena).
- DOGIEL (1930): Die prospektive Potenz der Syncaryonderivate, erläutert an der Conjugation von Paraisotricha. Arch. f. Protistenk. Bd. 70.
- DUNIHOE (1931): The vacuome and the neutral red-reaction in Paramaecium caudatum. Arch. f. Protistenk. Bd. 75.
- ENDLER (1912): Über den Durchtritt von Salzen durch das Protoplasma. I u. II. Biochem. Zeitschr. Bd. 42 u. 45.

- ERDMANN u. WOODRUFF (1914): A normal periodic reorganization process without cell fusion in *Paramecium*. Journ. exp. Zool. Vol. 17.
- (1916): The periodic reorganization process of *Paramecium caudatum*. Ibid. Vol. 20.
- FINE (1912): Chemical properties of hay-infusions with special reference to the titrable acidity and its relation to the Pootozoan sequence. Journ. exp. Zool. Vol. 12.
- FORTNER (1926): Zur Frage der diskontinuierlichen Exkretion bei Protisten. Arch. f. Protistenk. Bd. 56.
- GICKELHORN u. KELLER (1926): Organspez. Differenzierung des Tierkörpers durch elektive Vitalfärbung. Biologia generalis Vol. 2.
- GICKELHORN (1929): Kristalline Farbstoffspeicherung im Protoplasma und Zellsaft pflanzlicher Zellen nach vitaler Färbung. Protoplasma Bd. 7.
- GOLDSCHMIDT, R. (1928): Einführung in die Vererbungs-Wissenschaft. (Berlin.)
- GREENWOOD (1894): On the constitution and the mode of formation of food vacuoles in Infusoria. Philos. Trans. Roy. Soc. London.
- HANCE (1917): Studies on a race of *Paramecium* possessing extra contractile vacuoles. I. Journ. exp. Zool. Vol. 23.
- (1918): *Paramecia* with extra contractile vacuoles. Sc. N. S. Vol. 48 Nr. 1238.
- HERTWIG, R. (1894): Mit welchem Recht unterscheidet man geschlechtliche und ungeschlechtliche Fortpflanzung? Sitz.-Ber. Ges. Morph. u. Pysiol. München.
- (1914): Über Parthenogenesis der Infusorien und die Depressionszustände der Protozoen. Biol. Zentralbl. Bd. 34.
- HERZFELD, E. (1917): Über die Natur der am lebenden Tier erhaltenen granulären Färbungen bei Verwendung basischer und saurer Farbstoffe. Anatomische Hefte Bd. 54.
- HIRSCH, (1925): Probleme der interplasmatischen Verdauung. Zeitschr. vergl. Physiol. Bd. 3.
- HÖBER (1924): Physikalische Chemie der Zelle und der Gewebe.
- JENNINGS (1927): Genetics of the Protozoa. Bibliographia genetica. V.
- JOLLOS (1921): Experimentelle Protistenstudien. 1. Untersuchungen über Variabilität und Vererbung bei Infusorien. Arch. f. Protistenk. Bd. 43.
- KELLER (1925): Die Elektrizität in der Zelle (Mährisch-Ostrau).
- KHAINSKY (1911): Zur Morphologie und Physiologie einiger Infusorien. Arch. f. Protistenk. Bd. 21.
- KLEIN (1926): Ergebnisse mit einer Silbermethode bei Ciliaten. Arch. f. Protistenk. Bd. 56.
- (1927): Die Silberlinien der Ciliaten Ibid. Bd. 58.
- KLITZKE (1914): Über Wiederconjuganten bei *Paramecium caudatum*. Arch. f. Protistenk. Bd. 33.
- KOEHRING, VERA (1930): The neutral-red reaction. Journ. of Morphology Vol. 47.
- KONO (1930): Untersuchungen zur Frage der Vitalfärbung und deren Beeinflussung durch Gifte. Protoplasma Bd. 11.
- KREBS u. NACHMANNSOHN (1927): Vitalfärbung und Adsorption. Bioch. Zeitschr. Bd. 186.
- LANDIS (1920): An amiconucleate race of *Paramecium caudatum*. The American Naturalist. Vol. 54.
- (1925): Conjugation of *Paramecium multimicronucleata*, POWERS and MITCHEL. Journ. of Morphology Vol. 40.

- LOSINA-LOSINSKY (1931): Zur Ernährungsphysiologie der Protisten. Arch. f. Protistenk. Bd. 74.
- LUDFORDT (1931): Vital Staining of normal and malignant cells. Proc. of the Roy. Society Series B Vol. 107.
- MAUPAS (1886): Le rajeunissement karyogamique chez les ciliés. Archives de Zool. experim. et générale T. 7 2. Série.
- MICHAELIS (1922): Die Wasserstoffionenkonzentration. (Berlin).
- V. MOELLERDORFF (1918): Zur Morphologie der vitalen Granulafärbung. Arch. f. mikrosk. Anat. Bd. 90.
- (1918): Die Bedeutung von sauren Kolloiden und Lipoiden für die vitale Farbstoffbindung in den Zellen. Ibid. Bd. 90.
- (1920): Vitale Färbung an tierischen Zellen. Ergebnisse d. Physiol. Bd. 18.
- MYERS (1927): Relation of density of population and certain other factors to survival and reproduction in different biotypes of *Paramaecium caudatum*. Journ. exp. Zool. Vol. 49.
- NASSINOV (1926): Die physikalische Bedeutung des GOLGI-Apparates im Lichte vitaler Färbungsmethoden. Zeitschr. wiss. Biol. Bd. 3.
- NEUHAUS (1910): Versuche über Gewöhnung an Arsen, Antimon, Quecksilber und Kupfer bei Infusorien. Arch. intern. de pharmacodynamie et de thérapie Vol. 20.
- NIRENSTEIN (1905): Beiträge zur Ernährungsphysiologie der Protisten. Zeitschr. f. allg. Physiol. Bd. 5.
- (1920): Über das Wesen der Vitalfärbung. PFLÜGER's Arch. f. d. ges. Physiol. Bd. 179.
- PEEBLES (1912): Regeneration and regulation in *Paramaecium caudatum*. Biol. Bull. Vol. 23.
- PENARD (1922): Etudes sur les Infusoires d'Eau Douce. Genf.
- POWERS and MITCHELL (1910): A new series of *Paramaecium*. Biol. Bull. Vol. 19.
- V. PROWAZEK (1897): Vitalfärbung mit Neutralrot an Protozoen. Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. 63.
- (1899): Kleine Protozoenbetrachtungen. Zool. Anz. Bd. 22.
- (1901): Zelltätigkeit und Vitalfärbung. Ibid. Bd. 24.
- (1909): Studien zur Biologie der Zellen. Biol. Zentralbl. Bd. 29.
- PÜTTER (1900): Studien über Thigmotaxis bei Protisten. Arch. f. Physiol. u. Anat.
- ROSKIN u. LEVINSOHN (1926): Die Oxydasen und Peroxydasen bei Protozoen. Arch. f. Protistenk. Bd. 56.
- RUMJANTZEW u. KEDROWSKY (1927): Untersuchungen über Vitalfärbung einiger Protisten. Protoplasma Bd. 2.
- SCHEWIAKOFF (1894): Über die Natur der sog. Exkretkörner der Infusorien. Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. 57.
- SCHULEMANN (1912): Beiträge zur Vitalfärbung. Arch. f. mikrosk. Anat. Bd. 79.
- SPEK (1924): Neue Beiträge zum Problem der Plasmastrukturen. Zeitschr. f. wiss. Biol. Abt. B Nr. 1.
- STRANGHÖNER (1932): Teilungsrate und Kernreorganisationsprozeß bei *Paramaecium multimicronucleatum*. Arch. f. Protistenk. Bd. 78.
- STRELNIKOW (1929): L'adsorption des colorants basiques par *Paramaecium caudatum*. Compt. rend. hebdomadaires de la Soc. de Biol. 81. Jahrg. Vol. 100.
- THAPAR and CHAUDHURY (1923): The occurrence and significance of a third contractile vacuole. Journ. of the Roy. Microsc. Soc.

- TRAUBE u. KÖHLER (1916): Über Farbstoffe. Intern. Zeitschr. f. physiol.-chem. Biol. Bd. 2.
- VONWILLER (1927): Intravitale Färbung von Protozoen. ABDERHALDEN's Handbuch Abt. 5 Teil 2.
- WALLENGREN (1902): Inanationserscheinungen der Zelle. Zeitschr. f. allg. Physiol. Bd. 1.
- WENRICH (1930): Eight well-defined races (species) of *Paramecium caudatum*. Trans. of the Americ. Microsc. Soc. Vol. 47.
- WOODRUFF (1912): Observations on the origin and sequence of Protozoan Fauna on hay-infusion. Journ. exp. Zool. Vol. 12.
- (1914): So-called conjugating and non-conjugating races of *Paramecium*. Ibid. Vol. 16.
- (1921): Micronucleate and amiconucleate races of Infusoria. Ibid. Vol. 34.
- (1925): The physiological significance of conjugation and endomixis in the Infusoria. The Americ. Naturalist. Vol. 59.
- ZWEIBAUM (1912): Conjugaison et différenciation sexuelle chez les infusoires. Arch. f. Protistenk. Bd. 26.

Tafelerklärung.

Tafel 4.

Fig. 1. *P. caudatum*. Vergr. 1:1730. 8 Stunden nach Einwirkung von Neutralrot 1:500 000. NV = Nahrungsvakuole.

Fig. 2. *P. caud.* Vergr. 1:400. 6 Stunden nach Einwirkung von Neutralrot 1:500 000.

Fig. 3. *P. multi*. Vergr. 1:1730. 20 Tage gehungert, gefärbt mit Neutralrot 1:2 000 000, beobachtet nach 1½ Stunden.

Fig. 4. *P. caud.* Vergr. 1:400. 7 Tage nach Einwirkung von Akridin-gelb 1:200 000.

Fig. 5. *P. caud.* Vergr. 1:1730. 2 Tage nach Einwirkung von Sudan III 1:80 000. EK = Exkretkristalle.

