Nachdruck verboten.
Übersetzungsrecht vorbehalten.

(Aus dem Zoologischen Institut der Universität Halle a. d. Saale.)

Untersuchungen an *Frontonia marina* Fabre-Dom. aus einer Binnenland-Salzquelle unter besonderer Berücksichtigung der pulsierenden Vakuole*).

Von

Karl Oberthür.

Mit 9 Abbildungen im Text.

Inhaltsverzeichnis.

Seite

1. Fundort, Material und Technik 388
2. Morphologische Untersuchungen an *Fr. marina* 389
   a) Gestalt, Plasma, Kern 389
   b) Die pulsierende Vakuole 390
3. Biologische Beobachtungen 391
   a) Bewegung 391
   b) Nahrungsaufnahme 392
   c) Konjugation 393
   d) Teilung 394
4. Das Verhalten der pulsierenden Vakuole unter verschiedenen Bedingungen 395
   a) Problemstellung 395
   b) Die Vakuolenfrequenz im normalen Medium 395
   c) Die Vakuolenfrequenz bei allmählicher Übertragung in hypotonisches Medium 396
   d) Die Vakuolenfrequenz bei allmählicher Übertragung in hypertonisches Medium 399
   e) Die Vakuolenfrequenzen nach plötzlicher Übertragung in niedere und höhere Konzentrationen gemessen nach verschiedenen Zeiten 400

---

*) Erschienen als Dissertation der Naturwissenschaftlichen Fakultät der Martin Luther-Universität Halle-Wittenberg.

f) Die Vakuolenfrequenz bei Teilungsstadien, Geschwistertieren und Konjuganten . . . . . Seite 404
5. Diskussion der Ergebnisse, Versuche an Hungertieren und an *Frontonia leucas* 407
6. Diskussion der Literatur 413
7. Zusammenfassung 416
8. Schriftenverzeichnis 418

---

1. Fundort, Material und Technik.

Das Objekt der folgenden Untersuchungen, *Frontonia marina* Fabre Domergue entstammt dem Abflußgraben der Friedhofsquelle bei Artern an der Unstrut, einer Binnenlandsalzquelle von 4,38 Proz. Salzgehalt.

Die Friedhofsquelle entspringt in einem kleinen Kessel am Ende eines starken, von Bäumen beschatteten Taleinschnittes auf dem nördlich von Artern gelegenen Friedhof (70 l/Sek.). Der von ihr gebildete Solgraben verläßt den Friedhof, wird breiter und flacher, sein Wasser ist dem Lichte stärker ausgesetzt. Gelegentliche Überflutungen und die Durchflutung haben auf dem anliegenden Lande eine ausgeprägte Salzflora entstehen lassen.

Im Quellbereich selbst gedeihen dunkelbraune marine Kieselalgen in großen Mengen; daneben finden sich auch grüne Polster von *Vaucheria*. Im Abflußgraben gesellt sich an stärker strömenden Stellen noch die grüne Darmalge *Enteromorpha* dazu. Tiere finden sich fast nur im Graben: der gegen hohen Salzgehalt besonders harte Stichling (*Gasterosteus aculeatus* L.), Larven der Zuckmücke, marine Würmer und Infusorien. Von letzteren ist *Frontonia marina* Fabre Domergue stark, *Pleuronema coronatum* Kent und *Uronema filificum* Kahl häufig, *Pleuronema marinum* Dujardin nicht sehr häufig vertreten. Gelegentlich finden sich *Uronychia transfuga* O F. Müller, *Strombidium elegans* Flor., *Mesodinium pulex* Clap., *Loxophyllum helus* Stokes, *Uropedalium pyriforme* Kahl, *Metacystis truncata* Cohn, *Prorodon ovum* Ehrb.-Kahl und nicht näher bestimmte Cyclidien und kleinere Hypotrichen.

Eine Analyse des Arterner Wassers ergab folgenden Befund (Kolkwitz, in Thumm, Kolkwitz u. Schiemenz, 1915/17):

Gesamtrückstand in 1 l des unfiltrierten Wassers 43850 mg (4,38 Proz.).

Cl	22400 mg pro l	Na_2O	15426 mg pro l
SO_3	3142 „ „ „	CaO	2006 „ „ „
K_2O	2045 „ „ „	MgO	52000 „ „ „

Die Arterner Quelle besitzt also einen um etwa 1 Proz. höheren Salzgehalt als das Meerwasser (Nordsee bei Borkum: 3,2 Proz.), ist jedoch kalkreicher und magnesiaärmer. Die Härte des Wassers beträgt 273 D. Gr., sein p_H 7,34. Die Temperatur schwankt wenig um 13° C.

Das Untersuchungsmaterial wurde aus Artern nach Halle gebracht. Diese Proben enthielten *Frontonia marina* in großer Anzahl, selbst nach 4 Wochen waren die Tiere in den Schöpfproben noch zahlreich zu finden, bis die Kulturen plötzlich verödeten. Teilungsstadien fanden sich allerdings nur während der ersten 3 Tage, vielleicht deshalb, weil das p_H von 7,34 leicht anstieg (bis etwa 7,6) [1]. Züchtung von Klonen war deshalb nicht möglich [2].

2. Morphologische Untersuchungen.

a) Gestalt, Plasma, Kern.

Die morphologischen Untersuchungen wurden nach Möglichkeit am freischwimmenden Tier ausgeführt, was insofern nicht sehr schwierig war, als die Tiere sich nur mit einer Durchschnittsgeschwindigkeit von 1,2 mm/Sek. fortbewegen. Im übrigen wurden die Tiere durch das auf Wachsfüßchen ruhende Deckglas leicht festgelegt, daß sie keinerlei Schädigungen erlitten; Traganth oder ähnliches wurde mit Rücksicht auf das salzhaltige Medium vermieden. Für Schnittpräparate wurden die Tiere mit heißem Wetzelschen Gemisch (Pikrinsäure gesättigt wässerig, Formol, Essigsäure 95 Proz. wie 3 : 1 : 1) fixiert, das sich als bestes erwies. Die Einbettung geschah über Methylbenzoat-Celloidin; Schnittdicke 2,5 μ und 5 μ. Färbung: Hämalaun-Eosin (oder Chromotrop 2R). Reine Kernfärbung mit Feulgens Reagens oder Methylgrün-Essigsäure.

Die Größe der Arterner Tiere schwankt zwischen 180 μ und 450 μ (Durchschnitt 350 μ); die Maximalbreite zwischen 100 μ und 220 μ. Die kleineren Tiere sind relativ breiter. Im durchscheinenden Licht sind die Tiere von einem gelblichen Grau. Der Körper ist sehr biegsam und dorsoventral ziemlich stark zusammengepreßt. Der linke Rand des Tieres (von oral gesehen der rechte) ist konvex, der rechte (von oral: der linke) fast geradlinig oder schwach konvex. Das vordere Ende ist gleichmäßig abgestumpft und zeigt in der Gegend des Cytostoms eine etwa keulenförmige Verdickung. Das hintere Ende ist leicht verjüngt und allseitig gleichmäßig zugespitzt.

Die Pellicula ist auffallend dick und erscheint im optischen Schnitt nach außen regelmäßig gezackt; auf den Erhebungen sitzen die Cilien. Sie sind verhältnismäßig klein — etwa 3 μ — und nur am Hinterende der Zelle etwas länger, 6—8 μ.

---

[1]) p_H-Messungen wurden ausgeführt mit dem Leitzschen Potentiometer.

[2]) Von Herrn Prof. A. Remane erhielt ich den Hinweis auf die Tierwelt der Arterner Salzquelle; von Herrn Prof. v. Buddenbrock einen Arbeitsplatz im Zool. Institut. Die Arbeit wurde unter Leitung von Doz. Dr. Ludwig ausgeführt. An dieser Stelle danke ich den Herren für ihr stetes Interesse, das sie meiner Arbeit entgegenbrachten und auch für die vielen Anregungen und Ratschläge.

Die unter der Pellicula gelegenen Trichocysten sind auffallend groß und wie bei *Frontonia leucas* gebaut (Allman, 1855; Schuberg, 1905; Brodsky, 1908; Tönniges, 1914; Klein, 1929; Krüger, 1931 u. a.).

Das Entoplasma ist ein lockeres und regelmäßiges Maschennetz, das von einem klaren und durchsichtigen Paraplasma angefüllt ist. Auf Schnitten findet sich oft in der aboralen Hälfte eine feine Körnelung, die vermutlich durch aufgenommene Nahrung bewirkt wird. Zerschneidet man ein lebendes Tier, das sich im Arterner Wasser oder in Wasser höherer oder niedrigerer Salzkonzentration befindet, so quillt das Plasma nur leicht vor und erstarrt sehr bald am freien Rand. Das Tier vermag infolgedessen gut zu regenerieren.

Der ovale bis eiförmige Großkern liegt etwa in der Mitte der Zelle und ist gut sichtbar. In der Mittellinie liegen ihm, in dicht benachbarte Nischen eingebettet, drei bis sechs Micronuclei an. Sie sind oft so dicht an den Großkern angepreßt, daß sie einzeln nicht immer als solche erkennbar sind. Dies mag der Grund dafür sein, daß sie Fabre übersehen hat („Je n'ai pas vu de micronucleus"). Kahl (1935) gibt zwei, selten mehr Micronuclei an. — Der Beschreibung des Mundes durch Fabre (1891) ist nichts hinzuzufügen.

b) Die pulsierende Vakuole.

Die pulsierende Vakuole liegt dem Ectoplasma der aboralen Seite eng an. Sie liegt, wie Fabre angibt, „un peu à gauche de la ligne médiane". Zuführende Kanäle werden von ihm nicht genannt. R. Müller (1936) berichtet von einem Strahlenkranz von Kanälchen, die die Vakuole umgeben und ihr die Flüssigkeit aus dem Plasma zuführen. Die Tiere aus der Arterner Friedhofsquelle zeigten diesen Strahlenkranz nicht. Dies mag vielleicht rassen- oder standortbedingt sein, — auch die Ansicht Kahls, der meine Tiere überprüfte und sie einwandfrei als *Frontonia marina* erkannte, als ich auf Grund von Müllers Angaben an der Identität der Arten zweifelte [1]). Bei den Arterner Tieren waren nur zwei Zuführungskanäle sichtbar, die rechts von der Mittellinie und dieser parallel verlaufen [2]). Sie sind nur erkennbar, wenn das Tier sich so gedreht

[1]) Herrn A. Kahl, Hamburg danke ich an dieser Stelle für seine freundlichen Auskünfte bestens.

[2]) Anmerkung bei der Korrektur: Durch den Institutsgehilfen des Kieler Zoologischen Instituts erhielt ich nachträglich Exemplare von *F. marina* aus dem gleichen Graben, dem auch Müllers Material entstammte. Auch diese Tiere zeigten keinen Strahlenkranz.

hat, daß die Vakuole ganz an der Seite liegt. Zu beiden Seiten läßt sich auch ein von Nassanow (1924/25) und v. Gelei (1925 u. 1928) beschriebenes, besonders granuliertes Plasma erkennen, das von letzterem als „Nephridialplasma" bezeichnet worden ist. Es ist allerdings weniger gut ausgeprägt als bei *Paramecium* oder *Frontonia leucas* (nach eigener Feststellung).

Der Durchmesser der pulsierenden Vakuole beträgt im allgemeinen, unabhängig von der Körpergröße, 28 μ; nicht selten kommt es jedoch auch vor, daß ihre Größe selbst bei demselben Tier zwischen 20 μ (und weniger) und 35 μ schwankt. Der Mittelwert von 28 μ gilt für den Durchmesser der gefüllten Vakuole unmittelbar vor der Systole.

Bildungsvakuolen konnte ich bei *Frontonia marina* hin und wieder beobachten. In der Nähe der Zuführungskanäle bildet sich ein Bläschen — mitunter auch mehrere — (bis fünf solcher Bläschen habe ich beobachtet), die, nachdem sie einen Durchmesser von etwa 5—8 μ erreicht hatten, zu einer einzigen Blase zusammenflossen; diese wanderte meist längs des Zuführungskanals auf die pulsierende Vakuole zu und entleerte sich in diese, welche fast unmittelbar danach platzte. Bisweilen kam es aber auch vor, daß sich nach diesem Zusammenfließen die pulsierende Vakuole nicht entleerte, sondern daß sich von ihr wieder neue nebenvakuolen-ähnliche Blasen absonderten, die wieder in das Körperinnere wanderten und entweder verschwanden oder sich wie die echte pulsierende Vakuole durch Zerplatzen nach außen entleerten. Diese letztere Erscheinung führt zu den sog. „überzähligen pulsierenden Vakuolen", wie sie z. B. Dimitrowa (1928), Hance (1917) u. a. für *Paramecium* beschrieben haben. Solche überzähligen pulsierenden Vakuolen waren bei *Frontonia marina* nur in älteren Kulturen gelegentlich festzustellen, wie das Hance auch für *Paramecium* fand. Er vermutet in der verminderten Teilungsgeschwindigkeit die Ursache ihres Auftretens, womit die Befunde an *Fr. marina* übereinstimmen würden, denn auch hier unterblieb ja vom 3. Tage jede Teilung (s. S. 389, oben).

3. Biologische Beobachtungen.

a) Bewegung.

Frontonia marina schwimmt mit einer Geschwindigkeit von 1,2 mm/Sek. Bei rotierender Bewegung nach vorn oder hinten ist die Dorsalseite außen; unrotiert schwimmt das Tier ebenfalls mit der Dorsalseite nach außen. „Kriechen", das mehr ein Schwimmen

mit ständiger loser Berührung einer Unterlage darstellt, tritt ein, wenn das Tier, schief nach rechts oben geneigt, mit der linken Kante am Boden gleitet. Die einfache Abwehrreaktion geschieht auch immer nach links. Diese Beobachtungen entsprechen also denen an *Frontonia leucas* (Ludwig, 1929).

b) Nahrungsaufnahme.

Fast immer enthält *Frontonia marina* größere Algenstücke und Diatomeen; nicht selten in solcher Masse, daß dadurch der Körper deformiert wird. Es war naheliegend, die Aufnahme dieser relativ großen Stücke zu studieren. Beobachtungen zeigten, daß hierbei die Mundwimpern und die orale Membran eine geringe Rolle spielen. Ist das Tier in die unmittelbare Nähe z. B. einer Diatomee gekommen, so öffnet sich die Mundgrube sehr weit. Das Tier bewegt sich dann solange hin und her, bis es das eine Ende der Diatomee in die Mundöffnung geschoben und das andere Ende gegen einen Widerstand gedrückt hat. Sodann „stemmt" das Tier die Körpercilien gegen die Unterlage und schiebt sich auf die Diatomee zu. Wohl strudeln auch die Mundwimpern; da aber die Mundspalte außerordentlich weit geöffnet ist und die Wimpern mit der Nahrung kaum in Berührung kommen, ist es unwahrscheinlich, daß der von ihnen erzeugte Wasserstrom bei der Bewältigung der großen Stücke irgendwie mithilft. Ist das Nahrungspartikel weit genug in das Zellinnere hineingedrückt, so kommt auch das Körperplasma zur Hilfe, indem es zu beiden Seiten der Diatomee in lebhafte Strömung gerät. So wird die Kieselalge allmählich in den Körper „hineingewürgt". Im Hinterende des Tieres erkennt man deutlich dunkelgrün bis blau gefärbte Kügelchen, die Zoochlorellen sehr ähnlich sind; ich möchte diese Plasmaregion als „Verdauungsplasma" bezeichnen. Die Kügelchen finden sich nur bei solchen Tieren, die Nahrung aufgenommen haben und dann in dichter Ansammlung. Die Annahme, daß hier gewisse Verdauungsfermente lokalisiert sind, scheint deshalb berechtigt, weil alle in diesem Bezirk liegenden Nahrungsstücke stets zuerst aufgelöst werden, während die im übrigen Körper befindlichen noch unversehrt sind und sich allmählich nach dem Hinterende verschieben. Große Beutestücke, z. B. große Diatomeen wurden stets am Hinterende zuerst aufgelöst. Ob es sich bei diesem Verdauungsplasma um die von Fortner (1928) beschriebenen azidophilen Granula handelt, sei dahingestellt. Um die der Alge entzogenen Nahrungsbrocken (z. B. um Bruchstücke der Chromatophoren) werden Nahrungsvakuolen gebildet, in die immer ein Körnchen des „Verdauungsplasmas" sezerniert wird. Diese Nahrungs-

vakuolen, die also stets sehr klein sind, wandern nun vom Hinterende weg, halten sich aber vorwiegend in der hinteren Körperhälfte auf.

Einen After von konstanter Lage, wie dies Fabre angibt[1]), konnte ich nicht feststellen. Die unverdaulichen Reste der Nahrung wurden an beliebigen Stellen des Körpers durch die Pellicula nach außen befördert, ohne daß dies durch einen größeren Druck durch das Deckglas oder dgl. bedingt war.

Die folgenden Beobachtungen lassen vielleicht vermuten, daß *Frontonia marina* nicht ausschließlich auf die Aufnahme geformter Nahrung angewiesen ist, sondern daß sie sich auch durch Aufnahme feinster suspendierter Nahrung lange am Leben erhalten kann; denn von ungefähr 30 in ein Reagenzglas gesetzten Tieren waren 8 Monate später noch sechs am Leben, ohne daß in der Zwischenzeit irgendwelche Nahrung wie Algen, Detritus usw. dazugetan wurde. (Kannibalismus wurde nie beobachtet.) Nach dieser Zeit waren die Tiere fast völlig durchsichtig, bewegten sich sehr langsam und waren äußerst empfindlich. Nur mit größter Vorsicht konnten die weiter unten beschriebenen Messungen der Pulsationsfrequenz der Vakuolen vorgenommen werden. Nach Nahrungszusatz erholten sich die Tiere bald. Da Teilungen (s. o.) nie beobachtet wurden, dürfte es sich wohl um Ausgangstiere gehandelt haben, die ein Alter von 8 Monaten erreicht hatten. Bemerkenswert ist auch, daß die Tiere der Giftwirkung ihrer Exkretstoffe widerstanden haben. Diese Fähigkeit scheint auch *Frontonia leucas* eigentümlich zu sein, von der eine Population noch jetzt nach 13 Monaten in demselben Reagenzglas gehalten wird. Die Lebensbedingungen sind allerdings günstiger, da Flagellaten und Bakterien für reichliche Nahrung sorgen. Teilung kommt noch vor, auffallend ist jedoch, daß die Zahl der Tiere periodenweise stark schwankt.

c) Konjugation.

Bei der großen Zahl der Tiere, die ich zur Verfügung hatte, konnte ich Konjugation öfters beobachten. Der Mund bleibt entgegen der Schilderung, die Kahl (1935) für diese Gattung und für das nahe verwandte *Paramecium* gibt, nicht frei; vielmehr tritt eine fast vollkommene Verschmelzung der beiden Oralseiten ein und nur kleine Stellen an den beiden äußersten Enden bleiben frei. Bei stärkerem

[1]) Er soll nach Fabre auf der Nahtlinie liegen (Le anus est placé sur le trajet de la ligne suturale et vers le quart postérieur du corps).

Druck des Deckglases allerdings wird der Mund bald freigegeben, während das übrige verschmolzen bleibt. Die dauernde Vereinigung beträgt bei *Fr. marina* etwa 16 Stunden; in einem Fall habe ich Verschmelzung noch nach 28 Stunden beobachtet, in einem anderen Fall noch nach 21 Stunden.

d) Teilung.

Im frischen Wasser, also unter normalen Umständen, teilt sich *Fr. marina* alle 36 Stunden einmal, wie ich es in frischen Schöpfproben festgestellt habe. Der Teilungsvorgang dauert etwa 4 Stunden. Ob das Aufhören der Zellteilungen in den entnommenen Schöpfproben (vgl. S. 389) durch das langsame Ansteigen des p_H ursächlich bedingt ist, sei dahingestellt.

Von Interesse ist das Verhalten der pulsierenden Vakuole während der Teilung. Es fiel auf, daß bei manchen Tieren, die keine größeren Nahrungsstücke aufgenommen hatten, keine pulsierende Vakuole zu sehen war, oder daß sie, wenn überhaupt zu erkennen, unverhältnismäßig klein war und zudem nur in außerordentlich großen Zeitabständen pulsierte, bis sie schließlich vollständig verschwand. Plötzlich aber waren zwei Vakuolen festzustellen, die fortan regelmäßig pulsierten. Längere Beobachtung zeigte, daß derartige Tiere vor der Teilung standen. Dies war zuerst an einer kleinen, anfangs kaum bemerkbaren Einkerbung der linken (von oral gesehen: der rechten) Körperkontur des Tieres zu erkennen, an der Stelle, an der die pulsierende Vakuole gelegen ist. Erst später wurde die Teilungsebene sichtbar, so daß also bereits in der noch zusammenhängenden Plasmamasse des Muttertieres zwei völlig ausgebildete pulsierende Systeme vorhanden waren. Die Vakuolen arbeiteten unabhängig voneinander (s. Abschnitt 4).

Dasselbe, die Neubildung der pulsierenden Vakuolen im frühesten Teilungsstadium, wurde auch von Hance (1917) und Dimitrowa (1928) für *Paramaecium* beobachtet. Hance bemerkt allerdings, daß er auch Ausnahmen von dieser Regel gefunden habe, also Fälle, wo bei *Paramaecium*, das ja zwei Vakuolen besitzt, im Stadium der ausgebildeten Teilungsebene jede der beiden Tochterzellen zunächst nur je eine Vakuole des Muttertieres besaß. Dimitrowa hebt hervor, daß die Vakuolen schon vor dem Sichtbarwerden der Teilungsebene zu sehen waren und aus ursprünglich kanalsystemlosen Bläschen entstanden. — Bei *Fr. marina* verschwindet die pulsierende Vakuole allmählich unmittelbar vor der beginnenden Einkerbung des Plasmas; gleichzeitig bilden sich die Vakuolen der beiden Tochtertiere auf der gleichen Längslinie als Bläschen, die aus den Zuführungskanälen entstehen. Diese Zuführungskanäle bleiben also erhalten und werden zum Teil zu den neuen Vakuolen, bzw. führen diesen weiterhin die Flüssigkeit aus dem Körper zu.

4. Das Verhalten der pulsierenden Vakuole unter verschiedenen Bedingungen.

a) Problemstellung.

Die Arterner *Frontonia marina*, deren Lebensraum Salzwasser von 4,38 Proz. ist, ist, wie die nachfolgenden Untersuchungen zeigen, sowohl an reines Süßwasser wie an Konzentrationen bis 12,55 Proz. Salzgehalt anpassungsfähig, präsentiert also den euryhalinen Typus wie wenig andere Tiere. Sie ist daher ein günstiges Objekt, das Verhalten der pulsierenden Vakuole nach Aussüßung des Mediums sowie nach Übertragung in außerordentlich hohe Konzentrationen zu beobachten.

Bekanntermaßen handelt es sich um die vielumstrittene (im Abschnitt 5 näher diskutierte) Frage, ob die Pulsationsgeschwindigkeit nach Übertragung der Tiere in ein Medium geringeren Salzgehalts zunimmt bzw. bei Übertragung in höhere Salzkonzentration abnimmt, oder ob das nicht der Fall ist, d. h. ob zumindest nach längerem Verweilen in diesem Medium geringeren oder höheren Salzgehalts die Vakuolenfrequenz wieder die ursprüngliche wird.

Mit einer Stoppuhr wurde die Zeit von Systole zu Systole gemessen. Bei der großen Anzahl der nötigen Messungen war es nicht möglich, freischwimmende Tiere zu benutzen. Durch das auf Wachsfüßchen ruhende Deckglas wurden die Tiere soweit festgelegt, daß sie sich noch gut bewegen konnten, aber keine Quetschungen erlitten. Um ein Verdunsten des Wassers zu verhindern, wurde das Deckglas mit Vaseline umgeben. Die Messungen wurden bei Zimmertemperatur von etwa 21° C ausgeführt (Schwankungsbreite im ganzen etwa 3° C). Durch besondere Temperaturversuche konnte festgestellt werden, daß diese relativ geringen Temperaturunterschiede die Vakuolenfrequenz nur unwesentlich beeinflußten, ganz im Gegensatz zu *Paramecium* und anderen Ciliaten, deren Frequenz viel stärker von der Temperatur abhängt. Die Salzkonzentration wurde mit Hilfe eines geeichten Areometers bestimmt. — An jedem einzelnen Tier wurde für mindestens zehn aufeinanderfolgende Pulsationen das Intervall zwischen Systole zu Systole bestimmt. Von den variationsstatistischen Maßen bedeutet M den Mittelwert (d. h. das durchschnittliche Pulsationsintervall jedes Einzeltieres), m_M den zugehörigen mittleren Fehler; $\sigma \pm m_\sigma$ die zugehörige Streuung samt ihrem Fehler, $v = \frac{100\sigma}{M}$ den Variationskoeffizienten und n die Anzahl der Messungen. Der Durchschnittswert über alle Messungen eines Versuches mit Tieren von gleicher Vorbehandlung ist als Generalmittelwert bezeichnet.

Den folgenden Versuchen liegen insgesamt 7200 Einzelmessungen an 564 Tieren zugrunde, die alle berücksichtigt werden.

b) Die Vakuolenfrequenz im normalen Medium (4,38 Proz. Salzgehalt).

An zehn Tieren aus frischen Schlamm- und Wasserproben wurde zunächst das Pulsationsintervall im normalen Medium (das 4,38 Proz. Salz hat) gemessen (Tab. 1). Es ergab sich, daß der Pulsations-

Tabelle 1.
Vakuolenfrequenzen bei Tieren aus 4,38 Proz.

	A 1	A 2	A 3	A 4	A 5	A 6	A 7	A 8	A 9	A 10
M	164,3	122,1	212,3	212,2	176,9	156,9	168,6	169,3	182,3	159,3
m_M	12,7	5,6	8,8	4,4	10.1	15,1	16,1	9,3	4,0	4,5
σ	40,7	24,6	29,2	15,1	55,5	55,7	63,9	32,2	14,6	19,7
m_σ	9,1	5,0	6,3	3,1	8,1	10,9	13,1	5,7	3,8	4,1
v	24.8	20,2	13,7	7,1	31,7	35,5	47,8	18,9	8,0	12,4 %
n	10	12	11	12	30	13	12	12	12	12

Generalmittelwert:

$M \pm m_M = 172{,}95 \pm 4{,}13$
$\sigma \pm m_\sigma = 48{,}2 \pm 2{,}9$
$v = 27{,}9\ \%$
$n = 136$

rhythmus durchaus kein gleichmäßiger ist, sondern selbst bei demselben Individuum außerordentlich stark schwanken kann. Bei Tier A 5 tritt das deutlich zutage:

192	150	120	145	175	90
167	172	120	180	170	90
190	172	345	314	187	145
195	145	240	205	275	150
160	123	155	150	185	200

Die Höhe der Streuungswerte zeigt diese erhebliche Variabilität an (Tab. 1). Als Generalmittelwert für die 10 Tiere ergibt sich bei 136 Messungen 173,0 ± 4,1 Sekunden. Die Pulsationsfrequenz — etwa einmal in 3 Minuten — ist also sehr niedrig. Eine Abhängigkeit der Pulsationsfrequenz von der Größe des Tieres konnte nicht festgestellt werden.

c) Die Vakuolenfrequenz bei allmählicher Übertragung in hypotonisches Medium (4,38—0 Proz. in Stufen von 0,4 Proz.).

Durch Zusatz von bidestilliertem Wasser[1]) zur Rohkultur wurde zunächst eine Salzkonzentration von 4,0 Proz. hergestellt. Eine Messung des Pulsationsintervalls am dritten Tage nach dieser Verdünnung ergab bei 131 Messungen einen Mittelwert von 175,5 ± 2,33 Sek. gegenüber 173,0 ± 4,1 Sek. und 4,38 Proz. Salzgehalt. Eine Beschleunigung der Pulsationsfrequenz war also nicht eingetreten. Beide Werte sind innerhalb der einfachen Fehlerbreite identisch. Auffallend ist die große Abnahme der Streuung und

[1]) Destilliertes Wasser wurde über Jenaer Glas nochmals destilliert, wobei das erste und letzte Drittel weggegossen wurden.

des Variationskoeffizienten von 48,2 auf 26,7 Proz. bzw. von 27,9 auf 15,2 Proz. Immerhin lag noch die Vermutung nahe, daß diese Herabsetzung der Konzentration um 0,38 Proz. zu gering war, um die zu erwartende Beschleunigung an der Pulsationsfrequenz zu erkennen. Es wurde daher durch weiteren Zusatz von destilliertem Wasser der Salzgehalt sukzessive jeweils um 0,4 Proz. ermäßigt. Somit ergaben sich zwischen dem normalen Medium und reinem Süßwasser zehn Zwischenstufen. In jeder Zwischenstufe befanden sich die Tiere stets 3—4 Tage. Am Ende dieses jeweils dreitägigen Verweilens wurden je zehn Tiere entnommen und ihre Vakuolenfrequenz gemessen. Die Tiere wurden dann beseitigt. Das Ergebnis ist in Tab. 2 und Abb. 1 dargestellt.

Tabelle 2.

Die Vakuolenfrequenz von *Frontonia marina* nach allmählicher Übertragung in hypotonisches und hypertonisches Medium (n = Anzahl der Beobachtungen). Vgl. Abb. 1.

Salzgehalt in %	n	$M \pm m_M$	$\sigma \pm m_\sigma$	v %
0,00	130	171,6 ± 2,2	23,3 ± 1,6	14,8
0,40	134	171,5 ± 1,9	20,1 ± 1,2	12,9
0,80	136	170,5 ± 1,3	14,7 ± 0,9	8,6
1,20	129	171,7 ± 0,8	8,7 ± 0,5	5,1
1,60	129	171,6 ± 1,3	14,9 ± 0,9	8,7
2,00	128	172,8 ± 1,5	16,5 ± 1,0	9,5
2,40	131	173,4 ± 1,6	18,6 ± 1,2	10,7
2,80	128	172,7 ± 2,5	28,4 ± 1,8	16,4
3,20	118	172,0 ± 2,1	23,0 ± 1,5	13,4
3,60	120	173,4 ± 2,6	29,4 ± 1,9	16,2
4,00	131	175,5 ± 2,3	26,7 ± 1,7	15,2
4,38	136	173,0 ± 4,1	48,2 ± 2,9	27,9
5,38	131	171,2 ± 2,7	30,8 ± 1,9	15,3
6,40	135	167,0 ± 2,4	28,0 ± 1,7	16,5
7,40	131	170,8 ± 2,2	25,7 ± 1,6	15,0
8,40	140	170,7 ± 2,5	29,4 ± 1,8	17,2
9,40	136	171,7 ± 2,5	29,0 ± 1,8	16,9
10,40	131	170,9 ± 2,5	29,1 ± 1,8	17,0
11,40	136	172,2 ± 1,2	14,4 ± 0,9	8,4
11,80	137	173,7 ± 1,5	17,8 ± 1,1	10,3
12,20	139	173,4 ± 1,0	12,3 ± 0,7	7,1
12,55	143	171,6 ± 0,5	6.4 ± 0,4	3,8

Entgegen aller Erwartung trat keinerlei Beschleunigung ein, wie aus Abb. 1 (linke Hälfte) ersichtlich ist. In dieser Abbildung ist zu jeder Salzkonzentration der zugehörige Generalmittelwert, d. h. die durchschnittliche Pulsationsfrequenz eingetragen, berechnet auf Grund der Messungen an allen Tieren der betreffenden Kon-

zentration. Man erkennt, daß sich bereits innerhalb des Streifens des doppelten mittleren Fehlers eine Gerade ziehen läßt, die zur Abszissenachse parallel ist, ja größtenteils verläuft sie sogar innerhalb der einfachen Fehlerbreite der Originalkurve. Somit kann einwandfrei von einer gleichbleibenden Pulsationsgeschwindigkeit gesprochen werden.

Auffällig ist, daß die Streuung in der Originalkonzentration die maximale ist und daß sie (und somit auch Variationskoeffizient und mittlerer Fehler) mit steigender Verdünnung bis 1,2 Proz. abnimmt,

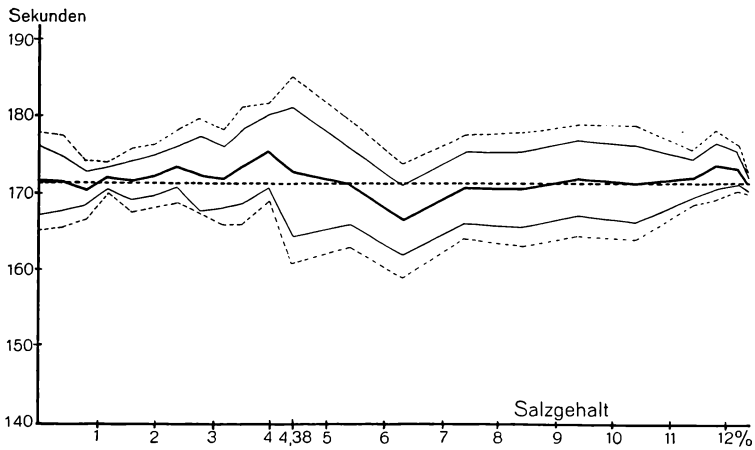

Abb. 1. Vakuolenfrequenzen (= Zeitdauer eines Pulsationsintervalls) in Sekunden (Ordinate) von *Frontonia marina* in Medien verschiedenen Salzgehaltes (Abszisse) nach allmählicher Übertragung der Tiere in diese Medien. (Vergleiche die Zahlwerte in Tabelle 2.) Die Kurve stellt die Generalmittelwerte dar, umgeben vom zweifachen und dreifachen mittleren Fehler.

um von hier an wieder anzusteigen. Bei Tieren der letzten Verdünnungsstufe handelt es sich praktisch um Tiere im Süßwasser, denn die Frontonien und die Nahrung wurden aus 0,4 Proz. mit einer dünnen Pipette in destilliertes Wasser übertragen, so daß also nur die bei der Umsetzung in der Pipette gebliebenen Spuren von Salzen in das neue Medium übertragen worden sein konnten.

Zusammenfassung. Bei allmählicher Aussüßung, wobei die Tiere in jeder Zwischenstufe mindestens 3 Tage verblieben, bleibt die Vakuolenfrequenz konstant. Die zugehörige Streuung nimmt ab. Auch konnten weder morphologische Veränderungen noch Quellungserscheinungen irgendwelcher Art festgestellt werden (Abb. 2).

d) Die Vakuolenfrequenz bei allmählicher Übertragung in hypertonisches Medium (4,38—12,55 Proz. in Stufen von 1 Proz.).

Wie sich in Vorversuchen herausstellte, verträgt *Frontonia marina* auch Konzentrationserhöhungen sehr gut, so daß bei den nachfolgenden Versuchen der Salzgehalt jeweils um 1 Proz. erhöht werden konnte. Nur ab 11,4 Proz. wurde aus besonderen Gründen jeweils um 0,4 Proz. erhöht. Das höher konzentrierte Wasser wurde aus Arterner Originalwasser durch vorsichtiges Eindampfen hergestellt. Gegebenenfalls wurde mit bidestilliertem Wasser rückverdünnt. Wiederum verblieben die Tiere mindestens 3 Tage in jeder Zwischenstufe und wurden nach Ablauf dieser Zeit gemessen. Das Ergebnis ist in Tab. 2 und Abb. 1 (rechte Hälfte) ersichtlich. Besonders deutlich zeigt die Abbildung, daß die für die Aussüßungsversuche konstruierte zur Abszissenachse parallele Gerade nach rechts verlängert werden kann und fast ausnahmslos innerhalb des einfachen Fehlers der Generalmittelwerte verläuft. Die Pulsationsfrequenz ist also bei allmählicher Übertragung zwischen 0—12,55 Proz. die gleiche.

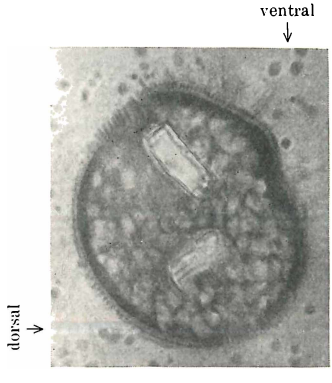

Abb. 2. Schnitt durch eine *Frontonia marina*, die aus Wasser von 4,38 Proz. allmählich in Wasser von 0 Proz. Salzgehalt übertragen wurde. Keine Quellungserscheinungen. Photographie. Objektiv Seibert 45 L ×, Okular 10 ×.

Analog zu den Aussüßungsversuchen ergibt sich, daß die Streuung und ihre Derivate, obwohl sie noch verhältnismäßig hoch bleiben, doch erheblich unter den Zahlenwerten liegen, wie sie sich für die normale Konzentration von 4,38 Proz. ergeben. Bei 11,4 Proz. ist die Streuung ziemlich gering. Es wurde deshalb fortan in Stufen von 0,4 Proz. verdünnt, doch ließ sich aus den weiteren Streuungswerten kein endgültiger Schluß ziehen.

Wenn es an sich schon eine bemerkenswerte Tatsache ist, daß *Frontonia marina* in 4,38 Proz. überhaupt eine pulsierende Vakuole besitzt, so ist die Erscheinung noch auffallender, daß sie eine Konzentration bis zu 12,55 Proz. Salzgehalt einmal überhaupt verträgt, daß zweitens ihre pulsierende Vakuole dann noch in Funktion ist und daß drittens die Pulsationsfrequenz noch die ur-

sprüngliche ist. Als äußerste Konzentration, in der *Frontonia marina* längere Zeit lebensfähig ist — mit Sicherheit habe ich das 10 Tage lang beobachtet —, wurde 12,55 Proz. festgestellt. Bei noch höherer Konzentration tritt eine plötzliche Schrumpfung der Tiere ein, so daß sie nach ganz kurzer Zeit — etwa 20 Minuten — sterben. Ebensowenig wie eine Verlangsamung des Vakuolenspiels traten nach diesen Übertragungen in höhere Konzentrationen Schrumpfungen (Abb. 3), Zelldeformation oder sonstige morphologische Veränderungen ein. Die Tiere verhielten sich vollkommen normal und nahmen nach wie vor Nahrung auf. Teilungsstadien wurden nicht beobachtet, jedoch aus den auf Seite 389 angeführten Gründen auch nicht erwartet. Das beste Zeichen, daß die Tiere sich wirklich an die einzelnen Salzlösungen gut angepaßt hatten und daß keinerlei Wirkung des hohen Salzgehalts wahrzunehmen ist, sind folgende Merkmale:

Abb. 3. Schnitt durch *Frontonia marina* aus Wasser von 12,55 Proz., in das das Tier allmählich überführt wurde. Keine Schrumpfung. Photographie. Seibert Immersion 100 ×, Okular 10 ×.

1. normale Körperzellform (ohne Quellungs- und Schrumpfungserscheinungen),
2. normale Beweglichkeit,
3. normale Nahrungsaufnahme und normaler Stoffwechsel,
4. normale Funktion der pulsierenden Vakuole.

e) Die Vakuolenfrequenzen nach plötzlicher Übertragung in niedere und höhere Konzentrationen, gemessen nach verschiedenen Zeiten.

Die bisherigen Befunde an *Frontonia marina* stehen mit den Beobachtungen, die verschiedene Autoren an anderen Protozoen gemacht haben, in Widerspruch. Nach den Ergebnissen dieser Autoren wäre anzunehmen gewesen, daß die Vakuolenfrequenz mit steigender Hypotonie des Außenmediums zunimmt, mit steigender Hypertonie abnimmt, bis die Vakuole schließlich völlig verschwindet. Auf alle diese Befunde wird in Abschnitt 6 noch eingegangen werden.

Noch bevor mir die Untersuchungen Kamadas (1935) vorlagen, vermutete ich bereits, daß diese Diskrepanzen zwischen den früheren

und den hier gemachten Befunden vielleicht so zustande kommen, daß jene Autoren eine andere Methodik verwendeten. Hierzu lieferte ein zufälliger Befund einen Fingerzeig. Als mir einmal die zu einem Versuch benötigten Tiere ausgegangen waren, übertrug ich Frontonien aus 4,38 Proz. direkt in 2,4 Proz. Salzgehalt und maß die Vakuolenfrequenz nach etwa 6 Stunden. Es zeigte sich, daß die Vakuole auffallend schnell pulsierte[1]). Jetzt schien also ein Ergebnis einzutreten, wie es nach den Befunden früherer Autoren zu erwarten gewesen wäre. Dieser zufällige Hinweis wurde dazu benutzt, um systematisch den Einfluß erstens der plötzlichen Übertragung und zweitens der Verweildauer auf die Vakuolenfrequenz zu untersuchen.

Tabelle 3.

Frontonien, die aus 4,38 Proz. Salzgehalt direkt in 3 Proz. übertragen wurden; gemessen nach verschiedenen Zeiten. Das zunächst verminderte Pulsationsintervall steigt und kommt nach 48 Stunden innerhalb der Fehlergrenze des normalen Mittelwertes zu liegen. Vgl. Abb. 4.

Stunden	n	$M \pm m_M$	$\sigma \pm m_\sigma$	v %
5	145	145,5 ± 1,1	13,4 ± 0,8	9,2
24	141	154,8 ± 1,2	14,2 ± 0,9	9,2
48	143	174,8 ± 1,5	17,3 ± 1,0	9,1
72	140	169,1 ± 1,8	20,9 ± 1,3	12,4

Tabelle 4.

Frontonien, die aus 4,38 Proz. Salzgehalt direkt in 1,5 Proz. übertragen wurden; gemessen nach verschiedenen Zeiten. Das zunächst verminderte Pulsationsintervall steigt und nähert sich allmählich dem normalen Mittelwert. Vgl. Abb. 5.

Stunden	n	$M \pm m_M$	$\sigma \pm m_\sigma$	v %
5	143	128,1 ± 0,9	10,6 ± 0,8	8,2
24	143	137,0 ± 0,6	7,2 ± 0,4	5,2
48	144	150,9 ± 1,2	13,9 ± 0,8	9,2
72	139	163,1 ± 1,1	13,0 ± 0,8	8,0
96	143	170,6 ± 1,3	16,1 ± 1,0	9,4

Frontonien wurden aus dem normalen Medium direkt in Wasser von 3, 1,5 und 0,4 Proz., ferner in Wasser von 6, 7,5 und 9 Proz. Salzgehalt übertragen. Die Vakuolenfrequenz der umgesetzten Tiere wurde erstmals nach 5 Stunden und ferner in regelmäßigen Abständen bis etwa 120 Stunden gemessen. Wie aus den Tab. 3—5 und Abb. 4—6 ohne weiteres ersichtlich ist, steigt sie nach Übertragung

[1]) Es handelt sich um einen zufälligen Versuch bei der „allmählichen" Übertragung (Abschnitt 4b); diese Tiere wurden nicht verwertet.

Tabelle 5.

Frontonien, die aus 4,38 Proz. Salzgehalt direkt in 0,4 Proz. übertragen wurden, gemessen nach verschiedenen Zeiten. Die Vakuolenfrequenz ist unmittelbar nach der Übertragung am höchsten; sie erreicht nach 120 stündigem Aufenthalt der Tiere in dem hypotonischen Medium wieder den ursprünglichen Wert. Vgl. Abb. 6.

Stunden	n	$M \pm m_M$	$\sigma \pm m_\sigma$	v %
5	145	111,8 ± 0,9	11,3 ± 0,7	10,1
24	146	128,4 ± 0,8	9,7 ± 0,6	7.5
48	150	142,6 ± 1,2	14,1 ± 0,8	9,9
72	150	152,5 ± 1,9	21,8 ± 1,3	14,3
96	140	163,6 ± 1,6	18,5 ± 1,1	11,3
120	136	170,8 ± 1,8	20,7 ± 1,3	12,1

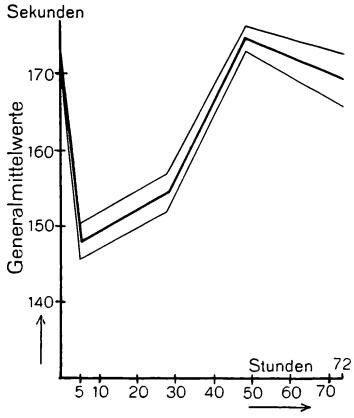

Abb. 4. Vakuolenfrequenzen (Ordinate = Sekunden) bei Tieren, die aus 4,38 Proz. direkt in 3 Proz. Salzgehalt übertragen wurden, gemessen nach verschiedener Verweildauer (Stunden = Abszisse) im neuen Medium. Ablesung nach 5 Std., 24 Std., 48 Std., 72 Std. Mittelwert mit zweifachem mittleren Fehler.

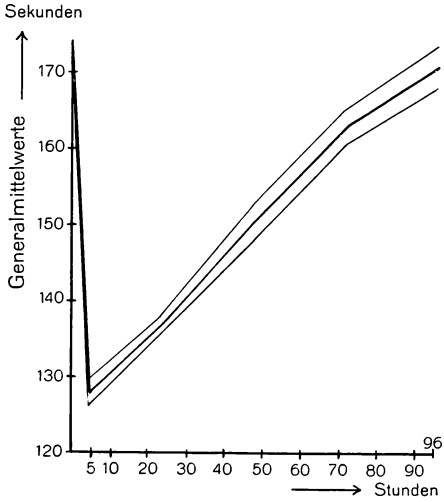

Abb. 5. Vakuolenfrequenzen (Ordinate = Sekunden) bei Tieren, die aus 4,38 Proz. direkt in 1,5 Proz. Salzgehalt übertragen wurden, gemessen nach verschiedener Verweildauer (Stunden = Abszisse) im neuen Medium. Ablesung nach 5 Std., 24 Std., 48 Std., 72 Std., 96 Std. Mittelwerte mit zweifachem mittleren Fehler.

in hypotonisches Medium plötzlich an und zwar um so stärker, je größer die Verdünnung war. Hierauf sinkt sie im Laufe von 50 bis 120 Stunden allmählich wieder auf den Normalwert und erreicht ihn um so früher, je geringer die Konzentrationserniedrigung war.

Bei Übertragung in hypertonisches Medium ergab sich genau das Umgekehrte (Tab. 6—8, Abb. 7—9): Zunächst eine plötzliche

Verlangsamung der Vakuolenfrequenz proportional der Konzentrationserhöhung; dann ein allmählicher Wiederanstieg und um so früheres Erreichen des Normalwerts, je geringer die Konzentrationserhöhung

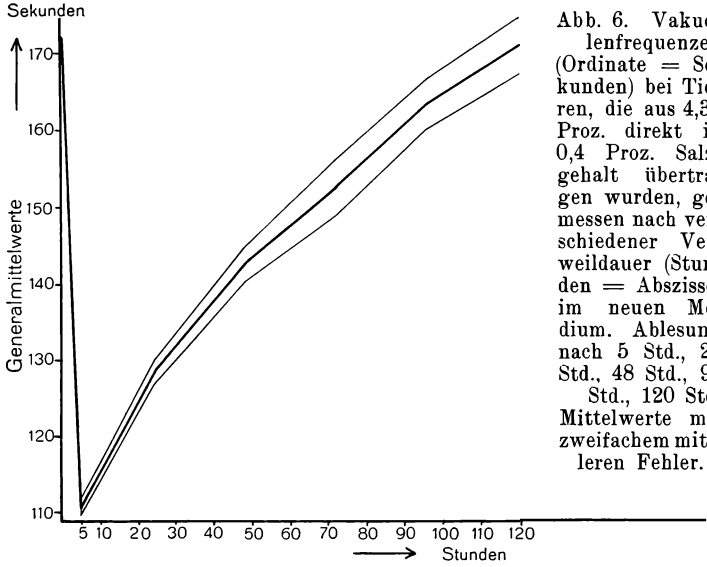

Abb. 6. Vakuolenfrequenzen (Ordinate = Sekunden) bei Tieren, die aus 4,38 Proz. direkt in 0,4 Proz. Salzgehalt übertragen wurden, gemessen nach verschiedener Verweildauer (Stunden = Abszisse) im neuen Medium. Ablesung nach 5 Std., 24 Std., 48 Std., 96 Std., 120 Std. Mittelwerte mit zweifachem mittleren Fehler.

war. Kontrollversuche ergaben ferner, daß die Originalfrequenz fortan erhalten blieb, wenn sie erst einmal erreicht war.

Tabelle 6.

Frontonien, die aus 4,38 Proz. Salzgehalt direkt in 6 Proz. übertragen wurden, gemessen nach verschiedenen Zeiten. Die Vakuolenfrequenz ist zunächst niedrig, sie steigt allmählich und erreicht dann den ursprünglichen Wert. Vgl. Abb. 7.

Stunden	n	$M \pm m_M$	$\sigma \pm m_\sigma$	v %
5	122	191,1 ± 1,7	18,8 ± 1,2	9,9
24	122	178,4 ± 2,2	24,2 ± 1,6	13,6
48	123	170,8 ± 2,3	26,2 ± 1,7	15,4

Die äußersten Konzentrationen, in die *Frontonia marina* direkt übertragen werden konnte, waren 0,4 und 9 Proz. Salzgehalt.

Trotz genauester Untersuchungen waren morphologische Veränderungen auch nach plötzlicher Übertragung in keinem Falle festzustellen. Die Tiere hatten stets normale Körperform und zeigten — auch unmittelbar nach der Übertragung in ein Medium, dessen Salzgehalt ein Zehntel des ursprünglichen betrug — keinerlei Quellungs-

erscheinungen. Auch nach Übertragung in höhere Konzentrationen (bis 9 Proz.) konnte keine Schrumpfung oder Bewegungsstörung festgestellt werden.

Tabelle 7.

Frontonien, die aus 4,38 Proz. Salzgehalt direkt in 7,5 Proz. übertragen wurden, gemessen nach verschiedenen Zeiten. Die Vakuolenfrequenz ist zunächst gering, sie steigt allmählich und erreicht nach 96stündigem Aufenthalt wieder den ursprünglichen Wert. Vgl. Abb. 8.

Stunden	n	$M \pm m_M$	$\sigma \pm m_\sigma$	v %
5	120	208,9 ± 2,5	26,9 ± 1,7	12,9
24	121	191,1 ± 2,4	26,8 ± 1,7	14,0
48	121	180,8 ± 2,6	28,2 ± 1,8	15,6
72	121	169,0 ± 2,6	29,0 ± 1,9	17 1
96	124	170,8 ± 2,2	24,2 ± 1,7	14,2

Tabelle 8.

Frontonien, die aus 4,38 Proz. Salzgehalt direkt in 9,0 Proz. übertragen wurden, gemessen nach verschiedenen Zeiten. Die Vakuolenfrequenz ist unmittelbar nach der Übertragung am kleinsten; sie erreicht nach 120stündigem Aufenthalt der Tiere in dem hypertonischen Medium wieder den ursprünglichen Wert. Vgl. Abb. 9.

Stunden	n	$M \pm m_M$	$\sigma \pm m_\sigma$	v %
5	122	222,3 ± 2,5	27,3 ± 1,8	12,2
24	123	209,4 ± 2,6	29,0 ± 1,9	13,8
48	123	196,1 ± 2,4	26,8 ± 1,7	13,7
72	123	185,3 ± 2,2	24,7 ± 1,6	13,3
96	122	175,7 ± 2,4	26,2 ± 1,7	14,9
120	122	170,3 ± 2,4	26,9 ± 1,7	15,8

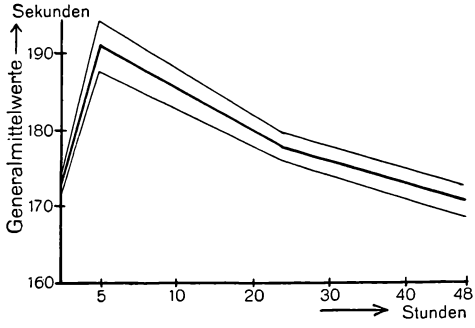

Abb. 7. Vakuolenfrequenzen (Ordinate = Sekunden) bei Tieren, die aus 4,38 Proz. direkt in 6,0 Proz. Salzgehalt übertragen wurden, gemessen nach verschiedener Verweildauer (Stunden = Abszisse) im neuen Medium. Ablesung nach 5 Std., 24 Std., 48 Std. Mittelwerte mit zweifachem mittleren Fehler.

f) Die Vakuolenfrequenz bei Teilungsstadien, Geschwistertieren und bei Konjuganten.

Wie in Teil 3 mitgeteilt wurde, geht zu Beginn der Teilung die ursprüngliche Vakuole zugrunde und im vorderen und hinteren Tier bildet sich dieses Organell jeweils neu. Zu den nachstehenden Unter-

suchungen wurden Tiere benutzt, bei denen die Durchschnürung des Protoplasmas zu ein Viertel bis zur Hälfte erfolgt war, so daß also beide Tochtertiere bereits eigene Vakuolen besaßen. Die Vakuolenfrequenzen beider Tiere wurden mittels zweier Stoppuhren abwechselnd gemessen. Die Ergebnisse dieser Messungen liegen in der Tab. 9 vor. Es zeigt sich, daß die Frequenz beider Vakuolen ziemlich stark differieren kann, wobei bald die vordere, bald die hintere schneller pulsiert. Dabei ist zu berücksichtigen, daß die Tochtertiere sich an Größe kaum unterscheiden, also die gleiche freie Oberfläche besitzen und daß auch der Durchmesser der Vakuolen übereinstimmt. Auch müßte der osmotische Druck des Plasmas der noch vereinigten Tochterzellen der gleiche sein. Zeigen also trotzdem vordere und hintere Vakuole verschiedene

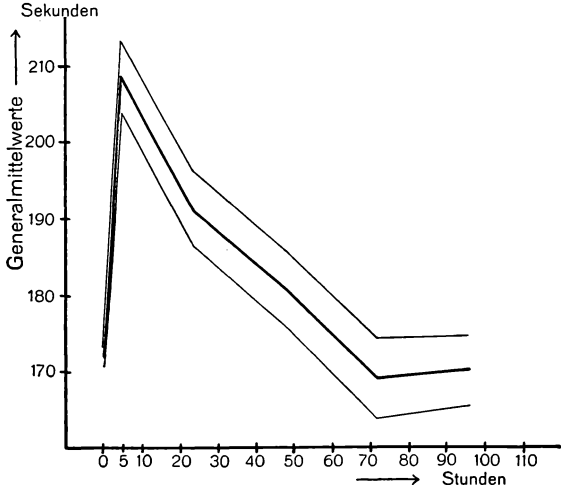

Abb. 8. Vakuolenfrequenzen (Ordinate = Sekunden) bei Tieren, die aus 4,38 Proz. direkt in 7,5 Proz. Salzgehalt übertragen wurden, gemessen nach verschiedener Verweildauer (Stunden = Abszisse) im neuen Medium. Ablesung nach 5 Std., 24 Std., 48 Std., 72 Std., 96 Std. Mittelwerte mit zweifachem mittleren Fehler.

Tabelle 9.

Die Vakuolenfrequenzen bei Teilungsstadien.
(Die Vakuole pulsiert bei beiden Tochtertieren verschieden.)

Tier 1	Tier 2	Differenz
164,7 ± 2,9	174,8 ± 3,0	10,1 ± 4,2
144,0 ± 2,4	156,8 ± 3,2	12,2 ± 4,0
182,6 ± 3,1	202,8 ± 2,4	20,2 ± 3,9
129,9 ± 2,5	159,2 ± 2,8	29,3 ± 3,8
170,3 ± 2,9	193,6 ± 2,4	23,3 ± 3,8
179,5 ± 2,5	159,4 ± 2,9	20,1 ± 3,8
166,1 ± 2,7	180,3 ± 2,5	14,2 ± 3,7
169,7 ± 2,7	150,1 ± 2,4	19,6 ± 3,6
195,2 ± 2,3	172,7 ± 2,6	22,5 ± 3,5
194,4 ± 2,6	173,3 ± 2,5	21,1 ± 3,6

Frequenz, so folgt hieraus, daß die Pulsationsfrequenz zumindest nicht allein vom Salzgehaltsunterschied zwischen Plasma und Außenmedium abhängt, daß also die Pulsationsfrequenz nicht grob osmotisch bedingt ist (vgl. hierzu die Diskussion in Abschnitt 5). Weiter kann man schließen, daß die beträchtliche Streuung in der Vakuolenfrequenz beim gleichen Tier, sowie innerhalb einer Gruppe verschiedener Tiere (vgl. Abschnitt 4 b) nicht durch wechselnden bzw. verschiedenen Salzgehalt bedingt zu sein braucht.

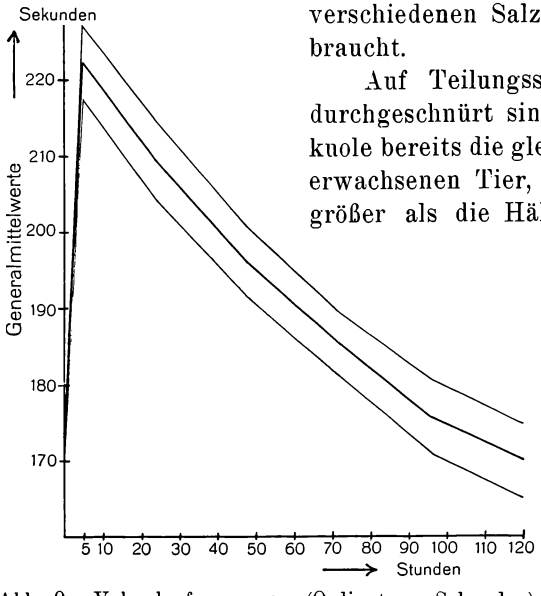

Abb. 9. Vakuolenfrequenzen (Ordinate = Sekunden) bei Tieren, die aus 4,38 Proz. direkt in 9,0 Proz. Salzgehalt übertragen wurden, gemessen nach verschiedener Verweildauer (Stunden = Abszisse) im neuen Medium. Ablesung nach 5 Std., 24 Std., 48 Std., 72 Std., 96 Std., 120 Std. Mittelwerte mit zweifachem mittleren Fehler.

Auf Teilungsstadien, die zur Hälfte durchgeschnürt sind, besitzt ferner die Vakuole bereits die gleiche Größe wie bei einem erwachsenen Tier, obwohl die Zelle kaum größer als die Hälfte einer normalen ist. Es war aus technischen Gründen nicht möglich, dieselben Tiere auch nach der erfolgten Teilung zu untersuchen. Es wurden daher Teilungsstadien isoliert und mehrere Stunden nach Ende der Durchschnürung die Vakuolenfrequenz der Geschwistertiere bestimmt. Das Ergebnis zeigt Tab. 10.

Gleichheit des osmotischen Drucks ist auch für Konjugationspartner zu erwarten; denn wenn sich zwei Tiere im Stadium maximaler Verschmelzung 3—4 Stunden im gleichen Lebensraum befinden, müßten sich anfänglich vorhandene Unterschiede im Salzgehalt beider Plasmen wohl ausgleichen. Man sollte erwarten, daß beide Vakuolen ziemlich mit gleicher Frequenz pulsieren und im Mittel etwas langsamer als bei Einzeltieren, da ja auf dem Konjugationsstadium die freie Oberfläche des Paares und somit der Wassereinstrom vermindert ist. Diese Verminderung tritt auch tatsächlich und meist sehr deutlich ein. Hingegen differieren die Pulsationszeiten beider Tiere oft beträchtlich (Tab. 11).

Tabelle 10.

Die Vakuolenfrequenz bei Geschwistertieren.
(Die Vakuole pulsiert bei beiden Tieren verschieden.)

Tier 1	Tier 2	Differenz
144,3 ± 3,7	179,1 ± 4,0	34,8 ± 5,4
169,8 ± 5,1	205,7 ± 4,0	35,9 ± 6,5
126,9 ± 2,7	145,8 ± 3,5	18,9 ± 4,4
234,7 ± 5,9	206,5 ± 3,4	28,2 ± 6,8
159,3 ± 4,7	128,8 ± 3,7	30,5 ± 6,0
169,6 ± 4,5	183,3 ± 5,2	13,7 ± 6,9
181,2 ± 3,5	151,4 ± 5,3	29,8 ± 6,4
185,5 ± 3,9	194,8 ± 4,3	9,3 ± 6,1
159,6 ± 4,1	140,3 ± 3,4	19,3 ± 5,3
169,3 ± 3,0	151,1 ± 3,4	18,2 ± 4,5

Tabelle 11.

Die Vakuolenfrequenzen bei Konjuganten.
(Die Vakuole pulsiert bei beiden Tieren verschieden.)

Tier 1		Tier 2		Differenz	Größeres Tier langsamer
Größe	Intervall	Größe	Intervall		
380 μ	206,8 ± 4,6	340 μ	176,0 ± 3,7	30,8 ± 5,9	+
300 „	203,7 ± 3,4	265 „	185,5 ± 4,4	18,2 ± 5,1	+
380 „	142,5 ± 2,2	340 „	154,4 ± 2,9	11,9 ± 3,6	—
280 „	195,6 ± 4,8	245 „	177,1 ± 3,1	18,5 ± 5,7	+
430 „	190,1 ± 4,2	390 „	178,2 ± 3,5	11,9 ± 5,5	+
300 „	231,7 ± 3,8	250 „	200,2 ± 4,2	31,5 ± 5,6	+
310 „	221,3 ± 2,9	290 „	245,2 ± 4,1	24,1 ± 5,0	—
400 „	187,4 ± 3,5	360 „	166,2 ± 3,4	21,2 ± 4,9	+
310 „	243,4 ± 3,4	270 „	263,5 ± 4,3	20,1 ± 5,5	—
250 „	210,7 ± 4,0	210 „	237,2 ± 3,1	26,5 ± 5,1	+

Diese Beobachtungen an Teilungsstadien, Geschwistertieren und Konjuganten, die sich im normalen Medium von 4,38 Proz. befanden, stimmen also mit der hohen Streuung der Frequenz der Einzeltiere überein und deuten darauf hin, daß die osmotische Differenz zwischen Innen- und Außenmedium die Pulsationsgeschwindigkeit vielleicht nicht ausschlaggebend beeinflußt.

5. Diskussion der Ergebnisse, Versuche an Hungertieren und an *Frontonia leucas*.

Die pulsierende Vakuole, die allen Süßwasserinfusorien eigen ist, fehlt bekanntlich einem Teil der marinen Ciliaten. Nach neueren Statistiken (ausgezählt nach Lepsi durch Ludwig sowie nach Kahl, 1935) besitzen etwa 90 Proz. der marinen Ciliaten dieses Organell, das ebenfalls auch der Mehrzahl der parasitischen Formen zukommt.

Manche Protozoenarten, die sowohl im Süßwasser wie im Meere vorkommen, z. B. *Actinophrys sol* Ehrbg. und *Colpidium colpoda* Ehrbg./Stein, haben nur im Süßwasser pulsierende Vakuolen (Reichenow). Der Ansicht Herfs', 1922, daß es sich „in den meisten Fällen der Meeresprotisten mit pulsierender Vakuole mehr um Brackwasserformen zu handeln scheint", kann man wohl kaum beipflichten. Denn vielen solcher Ciliaten kommt in reinem Meerwasser, bzw. Wasser hoher Salzkonzentration dieses Organell zu, wie z. B. der hier untersuchten *Frontonia marina* oder *Paramecium* (nach Angaben Ludwigs in Wasser bis zu 6,3 Proz. Salzgehalt gefunden).

Das Problem der pulsierenden Vakuole zerfällt (vgl. Ludwig, 1928) in drei Teilfragen: Der Mechanismus der Pulsation, den Zweck der Pulsation und der phylogenetischen Herkunft der Vakuole. Bezüglich der zweiten Frage, die man auch als Frage nach der Bedeutung der pulsierenden Vakuole formuliert findet, stehen sich zwei Ansichten gegenüber.

Die Vertreter der einen Theorie (reine Osmotheorie) betrachten sie als Organell, dem die ausschließliche Aufgabe zufällt, das durch die Zelloberfläche in den Zellkörper eindringende Wasser wieder hinauszuschaffen. Hierbei ist vorausgesetzt, daß dieser Wassereinstrom auf osmotischer Grundlage basiert, d. h., daß der osmotische Druck, bzw. die Salzkonzentration im Zellinnern größer als im Außenmedium ist. Die kontraktilen Vakuolen wären nach dieser Ansicht „Organelle rein negativer Funktion" (Ludwig), weil sie eben nur den Zweck haben, das eingedrungene Wasser hinauszuschaffen. Die andere, zuerst entstandene Theorie betrachtet die Vakuole als Exkretionsorgan (Exkretionstheorie). Die pulsierenden Vakuolen sollen das CO_2 und gewisse andere Stoffwechselprodukte hinausschaffen. Dabei ist anzumerken, daß Degen (1905), der als erster dieses Problem eingehend diskutierte und meist als Begründer der Osmotheorie angesehen wird, keineswegs die reine Osmotheorie verficht. Zwar nimmt er auf Grund seiner Versuchsergebnisse an — und diese Vorstellungsfolge findet sich auch bei Reichenow wieder —, daß osmotische Differenzen zwischen Innen- und Außenmedium den Wassereinstrom bedingen und daß die pulsierenden Vakuolen den Zweck haben, das eingedrungene Wasser hinauszuschaffen. Er nimmt aber weiter an, daß die so zustande gekommene Pulsation der Exkretion dient; ja er setzt dies für die Erklärung des Pulsationsmechanismus sogar voraus: in die noch kleinen Vakuolen sollen die Exkretstoffe abgeschieden werden; diese bedingen einen hohen osmotischen Druck innerhalb der Vakuolen,

so daß das Wasser aus dem umgebenden Protoplasma in die Vakuole hineindiffundiert. Eine andere vermittelnde Ansicht, die im Gegensatz zu Degen allgemein formuliert ist, hat Ludwig gegeben: „Beim Übergang vom Meer- zum Süßwasser bot sich in der osmotischen Druckdifferenz zwischen Außenmedium und Protoplast die Möglichkeit zur Schaffung eines leistungsfähigen Exkretionsorgans auf osmotischer Grundlage.“ Hätten die pulsierenden Vakuolen, entsprechend der reinen Osmotheorie, lediglich die Aufgabe, das dauernd infolge der Differenz der osmotischen Drucke eindringende Wasser wieder hinauszuschaffen, dann müßte sich bei Erhöhung der Salzkonzentration des Außenmediums die Vakuolenfrequenz vermindern, bei Erniedrigung erhöhen. Und diese Verminderung oder Erhöhung müßte solange erhalten bleiben, als sich das Tier in dem betreffenden Medium befindet. Zeigt sich aber, daß nach einer gewissen Verweildauer in dem veränderten Außenmedium die Vakuolenfrequenz wieder die ursprüngliche wird, besitzen also alle Tiere, welche sich eine gewisse Zeit in einem Medium von irgendwelchem Salzgehalt befinden, die gleiche Pulsationsfrequenz, dann ist die reine Osmotheorie im oben angegebenen Sinne hinfällig.

Bei *Frontonia marina* erreicht, wie die obigen Versuche zeigen, die Vakuolenfrequenz nach Verweilen in 0,4 Proz. bzw. 9 Proz. binnen weniger Tage wieder den ursprünglichen Wert und behält diesen fortan bei. Bleibt durch diesen Wechsel der Außenkonzentration der osmotische Druck des Protoplasten unbeeinflußt, dann kann der ständige Wassereinstrom kaum, oder zu mindest nicht in erheblichem Maße osmotisch bedingt sein. Nimmt man aber an, daß der Salzgehalt des Protoplasten mit steigender Salzkonzentration des Außenmediums steigt, mit sinkender sinkt — läßt also überhaupt das Plasma einen erheblichen Schwankungsbereich seines Salzgehaltes zu —, dann ist nicht einzusehen, weshalb nicht ständig Außendruck/Innendruck auf gleicher Höhe gehalten werden, so daß der „nutzlose“ Wasserdurchstrom erspart werden könnte und so komplizierte Organelle wie die pulsierende Vakuole überhaupt nicht hätten entstehen brauchen.

Die hier an *Frontonia marina* erhaltenen Ergebnisse sprechen eindeutig gegen die reine Osmotheorie. Daß die pulsierende Vakuole hier lediglich einen Schutz gegen Aussüßung darstellt (Herfs), ist völlig ausgeschlossen, wenn selbst bei über 12 Proz. Salzgehalt im Außenmedium das Vakuolenspiel erhalten bleibt. Vielmehr weisen die Ergebnisse darauf hin, daß der Zellkörper ein Vakuolen-

spiel von gleichbleibender Frequenz aufrecht zu halten sucht.

Nur nach plötzlicher Übertragung wird das Vakuolenspiel vorübergehend gestört: nach plötzlicher Übertragung in niedrigere Konzentrationen wird es schneller, nach plötzlicher Übertragung in höhere Konzentrationen langsamer. Daraus ist zu folgern, daß 1. der Wassereinstrom irgendwie osmotisch mitbedingt ist, daß 2. die Vakuolenfrequenz sich stets dem steigenden oder sinkenden Wassereinstrom anpaßt, und daß 3. — was hier am wichtigsten ist — das Tier, um einen konstanten Wassereinstrom aufrecht zu erhalten, nach Versetzung in ein Medium abweichender Salzkonzentration Vorkehrungen trifft, den Wasserzustrom abzubremsen bzw. erhöhen, so daß die Norm wieder erreicht wird. Dann ist aber zu vermuten, daß dies von seiten des Zellkörpers nicht geschähe, wenn die pulsierende Vakuole nicht noch eine andere Funktion zu erfüllen hätte. Hierbei wird man am ehesten an Exkretion denken.

Nähme man nach Ludwig (vgl. Abschnitt 6) oder im Sinne einer gemäßigten Exkretionstheorie an, daß die pulsierende Vakuole ein (auf osmotischer Grundlage basierendes) Organell zur Hinausschaffung des CO_2 sei, dann müßte die Vakuolenfrequenz mit sinkendem Stoffumsatz abnehmen.

Zu diesem Zweck wurden Untersuchungen an Tieren ausgeführt, die in filtriertem Wasser von 4,38 Proz. Salzgehalt etwa 14 Tage lang gehalten worden waren, also in Wasser, aus dem die normale Nahrung von *Frontonia marina* (Algen, Diatomeen, Detritus usw.) entfernt war. Obwohl die Messungen unter den gleichen Bedingungen wie bei den vorhergehenden Untersuchungen vorgenommen wurden, zeigte sich in dem Vakuolenrhythmus ein bedeutender Unterschied. Der Mittelwert betrug hier, wie aus Tab. 12 ersichtlich ist, 220,0 $\pm$ 5,18 Sek., war also um etwa 50 Sek. höher als der Generalmittelwert bei den normalen Tieren. Diese Tiere, die früher reichlich Nahrung aufgenommen hatten, waren jetzt ziemlich durchsichtig und ihre Bewegung war verlangsamt. Im übrigen zeigten sie keinerlei Veränderungen und waren auch 10 Tage später noch am Leben.

Im ersten Teil wurden Tiere erwähnt, die sich etwa 8 Monate ohne Nahrungszusatz in einem Reagenzglas befunden haben, dessen Existenz mittlerweile in Vergessenheit geraten war. Es wurde bereits früher bemerkt (Abschnitt 3), daß es sich bei diesen Tieren, die relativ klein und auffallend schlank waren und sich nur träge bewegten, vermutlich um Ausgangstiere, nicht um Teilungsprodukte handele. Die Ergebnisse werden im folgenden einzeln mitgeteilt.

Tabelle 12.

Vakuolenfrequenzen bei Hungertieren.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
M	218,5	267,8	295,2	183,3	170,4	274,2	196,5	249,7	172,1	184,9
m_M	4,8	3,5	9,6	7,5	8,7	11,4	7,6	8,0	8,9	8,5
v	6,9	10,9	10,2	12,9	16,2	13,1	12,2	10,1	16,3	14,5 %
n	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10

Generalmittelwert:

$M \pm m_M = 220{,}0 \pm 5{,}2$

$v = 23{,}6\ \%$

$n = 100$

Es ist zu bemerken, daß die Messungen hier an nichtfestgelegten Tieren erfolgen konnten, ferner daß infolge des mehrmonatigen Stehens die Salzkonzentration sich nicht wesentlich erhöht hatte, was übrigens (nach dem früheren) ohne Einfluß wäre. Die einzelnen Ergebnisse sind:

1. Tier. Nach Beginn der Beobachtung 1. Pulsation nach 7′ 50″ (Vakuolendurchmesser 22 μ). Die Vakuole füllte sich allmählich, erreichte einen Durchmesser von 25 μ, platzte jedoch nicht; bildete eine Ausbuchtung nach 9′, die wie eine Teilung der Vakuole aussah, aber nach 12′ wieder zurückging, platzte schließlich nach 23′ 07″ (D = 25 μ). Das Tier, welches bis jetzt ruhig gelegen hatte, wurde durch den heftigen Ausstoß der Flüssigkeit um etwa eine halbe Körperlänge nach vorn gestoßen, lag dann aber wieder still; die Vakuole füllte sich allmählich und platzte nach 18′. Sie füllte sich dann wieder, das Tier schwamm langsam nach vorn, blieb dann ruhig; Entleerung nach 8′ 47″. Wiederum füllte sich die Vakuole bis zu einem Durchmesser von 30 μ und kontrahierte sich nach 6′ 40″. Das Tier schwamm jetzt ruhig umher; nächste Kontraktion nach 17′ 04″.

Das zweite Tier hatte neben der pulsierenden Vakuole fünf Bildungsvakuolen, etwa 40 μ von der pulsierenden Vakuole entfernt, von denen zwei (D = 5 μ und 10 μ) ihre Flüssigkeit 4′ 20″ nach Beginn der Beobachtung gleichzeitig in den Körper entleerten. Eine dritte entleerte sich nach außen (nach Art einer überzähligen pulsierenden Vakuole) 4′ 50″ nach Beginn der Beobachtung. Das Tier wurde um eine viertel Körperlänge nach vorn gestoßen. Die beiden restlichen Bildungsvakuolen entleerten sich nach 8′ 45″ in die pulsierende Vakuole, die bei einem Durchmesser von 28 μ platzte. Das Tier schwamm langsam umher und zeigte dann wiederum Bildungsvakuolen. Auch sie entleerten sich (je 15 und 20 μ) in den Körper; die dritte entleerte sich 8′ nach der ersten Kontraktion bei einem Durchmesser von 20 μ nach außen. Die beiden übrigen verschmolzen wieder mit der pulsierenden Vakuole, die sich jetzt aber erst 2′ nach erfolgter Vereinigung entleerte (D = 25 μ). Seit der letzten Systole waren 16′ 45″ verstrichen. Hierauf traten abermals fünf Bildungsvakuolen auf; zwei entleerten sich 10′ 25″ nach der Systole der Hauptvakuole in die Zelle (je 16 μ); die dritte als „überzählige Vakuole“ nach 11′ 17″ nach außen. Die beiden letzten verschmolzen nach 17′ 21″ mit der pulsierenden Vakuole, die sich unmittelbar danach entleerte (31 μ).

Beim dritten Tier (220 × 90 μ, ungefähr gleichgroß wie Tier 1 und 2), pulsierte innerhalb von 30′ die Vakuole, die einen gleichbleibenden Durchmesser von 28 μ hatte, nicht.

Beim 4. Tier wurde 15′ 11″ nach Beginn der Beobachtung die erste Systole festgestellt. Im Laufe weiterer 18′ fand keine neue Entleerung statt; das Objekt schied durch einen unglücklichen Zufall aus.

An dem letzten noch vorhandenen Tier konnte ich vier Messungen vornehmen. Es besaß zwei Bildungsvakuolen (D = 20 μ), die etwa 42 μ von der pulsierenden Vakuole entfernt waren. Sie vereinigten sich nach einer gewissen Zeit und wanderten längs des vorderen Zuführungskanals in die pulsierende Vakuole, worauf diese sich entleerte. Die erste Systole fand 12′ nach Beginn der Beobachtung statt; die zweite nach weiteren 27′ 30″; die dritte nach 21′ 11″; die vierte nach 16′ 31″. Der Durchmesser betrug stets 28 μ.

Es war also bei diesen Hungertieren, auch bei Berücksichtigung der bisweilen hohen Vakuolengröße, der Wasserdurchstrom durch die Zelle sehr vermindert. Um zu prüfen, ob diese Tiere vielleicht schon im Absterben waren, wurden sie einzeln in frisches Wasser aus der Arterner Friedhofsquelle, in dem reichlich Algen und Diatomeen waren, gebracht. Am folgenden Tage hatten sie bereits Nahrung aufgenommen und unterschieden sich durch nichts mehr von normalen Tieren. Sie waren jetzt wieder ziemlich lebhaft und eine Messung des Vakuolenrhythmus ergab (Tab. 13) einen Mittelwert von 185,4 ± 2,6 Sek., der also nur um ein geringes höher als bei den normalen Tieren war.

Tabelle 13.

Vakuolenfrequenzen bei Tieren, denen nach 8 Monaten Hungers wieder Nahrung gegeben worden war.

	1	2	3	4
m	182,8	182,1	194,7	182,1
m_M	4,7	4,6	4,2	4,9
σ	15,0	14,8	13,1	15,5
m_σ	3,4	3,2	2,9	3,5
v	8,2 %	8,0 %	6,7 %	6,8 %
n	10	10	10	10

Generalmittelwert:

$M \pm m_M = 185{,}4 \pm 2{,}6$

$\sigma \pm m_\sigma = 16{,}4 \pm 1{,}8$

$v = 8{,}4\ \%$

$n = 40$

Es schien von Interesse, auch die *Frontonia marina* nächststehende Art *Frontonia leucas* aus dem Süßwasser, auf das Verhalten ihrer pulsierenden Vakuole zu untersuchen.

Die Tiere wurden im Erdaufguß (1 kg gesiebte Lauberde mit 1 l Wasser wiederholt durchgeschüttelt und nach 4—5 Tagen abgegossen) gezüchtet. Der Durchmesser der pulsierenden Vakuole, die (wie bekannt) von auffallenden Zuführungskanälen gespeist wird, betrug wie bei *Frontonia marina* 28 μ im Durch-

schnitt, die Entleerungsdauer bei *Frontonia leucas* nur $^1/_2$ Sek. gegenüber 1 Sek. und mehr bei *Frontonia marina*. Die Pulsation der Vakuole erfolgt bei *Frontonia leucas* fast regelmäßig alle 21 Sek.

Frontonia leucas ist nicht nur morphologisch, sondern auch physiologisch von *Frontonia marina* stark verschieden. Sie ist eine reine Süßwasserform und stenohalin. Nur mit äußerster Vorsicht konnte durch tropfenweise Zusetzung von Salzwasser aus der Arterner Friedhofsquelle der Salzgehalt gesteigert werden. Die Tiere hielten sich bis zu einer Konzentration von 0,8 Proz. (erreicht nach etwa 6 Tagen) lebensfähig. Stichproben zeigten, daß bei dieser allmählichen Steigerung der Konzentration keine Verlangsamung im Pulsationsrhythmus erfolgt war. Diese Ergebnisse stimmten also sowohl mit dem Verhalten der *Frontonia marina* als auch mit denen Kamadas an *Paramecium caudatum* überein.

Nach direkter Übertragung, die nur bis 0,4 Proz. möglich war, betrug der Mittelwert nach 5 Stunden $28 \pm 0{,}3$ Sek.; nach 24 Stunden wieder $21 \pm 0{,}1$ Sek., wie bei den normalen Tieren.

Alle diese Ergebnisse bestätigten somit die an *Frontonia marina* gewonnenen.

Wie bei der marinen Form wurden auch hier Messungen der Pulsationsfrequenzen bei Hungertieren ausgeführt, d. h. an Individuen, die 14 Tage in destilliertem Wasser gehalten worden waren. Der Mittelwert für das Pulsationsintervall betrug jetzt $27{,}3 \pm 0{,}32$ Sek., war also sehr erhöht, ebenso wie dies für *Frontonia marina* gilt.

6. Diskussion der Literatur.

Unsere Befunde an *Frontonia marina* zeigten, daß das Tier unter allen Umständen einen konstanten Wasserdurchstrom durch die Zelle aufrecht zu erhalten sucht und daß es innerhalb des Bereiches von 0—12,5 Proz., in dem es überhaupt leben kann, hierzu auch imstande ist. Allerdings paßt sich das Tier erst innerhalb einiger Stunden der neuen Umgebung an. Entsprechendes ergab sich auch für *Frontonia leucas*, und Kamada, 1935 stellte gleiches für *Paramecium caudatum* fest.

Adolph, 1926, kam bei *Amoeba proteus* auf anderem Wege zu einem anderen Ergebnis. Er fand, daß nach Übertragung in salzhaltiges Wasser die Vakuolenfrequenz zwar geringer, der Vakuoleninhalt aber größer wird, so daß die „rate of water elimination", also die Menge des pro Zeiteinheit einströmenden und hinausgeschafften Wassers in allen Konzentrationen die gleiche bleibt. Da Adolphs Ergebnisse indessen neuerdings in Zweifel gezogen wurden (Müller, 1936) und das oben an *Frontonia marina* erhaltene mit Adolphs Ergebnissen gleichsinnige Resultat auf anderem Wege zustande kommt, sollen dessen Befunde hier nicht weiter diskutiert werden. Es genügt, anzumerken, daß auch Adolph das durchströmende Wasser als Vehikel für irgendwelche Exkretstoffe betrachtet.

Die Vakuolenfrequenz und somit die Intensität des Wasserdurchstroms ist für verschiedene Protozoen recht verschieden. Im

allgemeinen ist letzterer für Meeresprotisten und überhaupt für alle Protozoen, die in salzhaltigem Wasser leben, geringer. Doch haben auch gewisse Süßwasserciliaten eine recht geringe Frequenz, z. B. das von HERFS, 1922 zitierte *Spirostomum teres* mit einem Pulsationsintervall von 30—40 Minuten. Wenn HERFS zur Erklärung dieser Tatsache das Oberflächenmassengesetz anführt, also meint, daß bei diesem großen Infusor durch die relativ kleine Oberfläche weniger Wasser einströmt, so hält diese Ansicht bereits quantitativ einer kritischen Überlegung nicht stand. Weiter aber kann man entgegenhalten, daß nach eigenen ausführlichen Beobachtungen das Pulsationsintervall bei *Stentor coeruleus*, dessen relative Oberfläche noch geringer als bei *Spirostomum* ist, nur im Mittel 160 Sek. beträgt. Auch ganz allgemein folgt die Pulsationsfrequenz nicht dem Oberflächenmassengesetz. Sehr große und beträchtlich kleinere Stentoren hatten nach eigenen Beobachtungen gleiche Frequenz. Für das relativ kleinere *Paramecium* erhielt HERFS bei 22—23° einen Mittelwert von 6,32 Sek., für die sehr kleinen Arten *Euglena deses* und *Euglena ehrenbergii* erhielt KLEBS (nach REICHENOW und HERFS) bei 18—20° einen solchen von 30 Sek.

Von den Autoren, die üblicherweise als Vertreter der „Osmotheorie" im Gegensatz zur „Exkretionstheorie" zitiert werden, scheiden zunächst alle jene aus, die sich auf eine Untersuchung unmittelbar nach der Übertragung beschränken und hierbei Beschleunigung oder Verlangsamung feststellen: z. B. HERFS, 1922 mit *Paramecium caudatum* und *Gastrostyla steinii* und GRIESSMANN, 1914 mit *Monas gutula* — einschließlich der neuesten Arbeit von MÜLLER, 1936, auf die ich später noch zurückkomme. Von Autoren, die langsame Anpassung vornahmen und nach längerem Verweilen der Tiere in den veränderten Konzentrationen keine Wiederkehr der ursprünglichen Frequenz beobachten, verbleiben somit: DEGEN, 1905 mit *Glaucoma colpoda* und ZUELZER, 1910 mit *Amoeba verrucosa*. (Aus den Arbeiten der meisten anderen Autoren ist keine nähere Angabe zu ersehen, nach welcher Zeit der Übertragung die Beobachtungen gemacht wurden.)

Da es sich hierbei um Untersuchung an anderen Objekten als *Frontonia marina* handelt, seien diese Ergebnisse nicht weiter kritisiert. Vielleicht scheint auch hier eine Nachuntersuchung ratsam, wofür an die jüngsten Ergebnisse KAMADAS, 1935 erinnert sei.

Andererseits treten neuerdings die Vertreter der Exkretionstheorie wieder in den Vordergrund. Nachdem GRIFFITHS' Nachweis der Harnsäureexkretion durch die pulsierende Vakuole durch How-

land, 1924 als unzuverlässig erwiesen wurde, traten Steiner, 1935 und Kitching, 1934 für die schon früher von Brandt, 1881/82 und Jennings, 1897 gegebenen Erklärungen der pulsierenden Vakuole als Exkretionsorgan, also für die „Exkretionstheorie" ein. Auf die Ausführungen von Koch, 1916 und Ludwig, 1928 sei ferner verwiesen. Auch die histologischen Untersuchungen von Schewiakoff, 1894, v. Gelei, 1925 und Nassonov, 1924 geben für sie greifbare Anhaltspunkte.

Die Befunde Kamadas (1935), von denen ich erst nach Fertigstellung der vorliegenden Untersuchungen erfuhr, bedürfen einer besonderen Würdigung.

Kamada übertrug *Paramecium* unmittelbar in stärker konzentrierte Salzlösungen (bis M/20) und stellte zunächst eine Verlangsamung der Pulsationsfrequenz fest, fand aber, daß sich diese nach Erreichen eines Minimums wieder beschleunigte und einem Werte — eben dem Normalwerte — zustrebte, der vom Salzgehalt des Außenmediums unabhängig war. Der zwischendurch erreichte Minimalwert der Pulsationsfrequenz war um so extremer, je konzentrierter das Außenmedium war. Er stellt fest, daß es auch vorübergehend niemals zu einem völligen Erlöschen der Pulsation kommt, und gelangt zu dem Schluß, daß das *Paramaecium* offenbar in der Lage ist, einen konstanten osmotischen Unterschied zwischen Außenmedium und Zellinnern aufrecht zu erhalten. Dies soll dadurch möglich werden, daß das Tier durch die Nahrungsvakuolen überzähliges Wasser aufnimmt oder bei der Defäkation überschüssiges Wasser abgibt.

Während der Zusammenstellung der vorstehenden Ergebnisse erschien die Arbeit von R. Müller, die neben *Amoeba proteus*, *Zoothamnium hiketes* Precht auch *Frontonia marina* (aus einem Brackwassergraben von zwischen 16 und 7 Prom. schwankenden Salzgehalt) berücksichtigt und das Verhalten der pulsierenden Vakuole in verschiedenem Salzgehalt untersucht.

R. Müller beschränkt sich auf Beobachtungen der Vakuolenfrequenz unmittelbar nach Übertragung in das neue hypotonische Medium (aus 7—16 Prom. — genauere Angaben fehlen — bis 3,9 Prom.), Übertragungen in stärkere Konzentrationen wurden nicht ausgeführt. (Das Gesamtsalzgehaltsintervall ist also $^1/_{32}$ des hier berücksichtigten.[1]) Er kommt zu einer Bestätigung der Osmotheorie („Es kommt also den kontraktilen Vakuolen die Aufgabe zu, den osmotischen Druck in der Zelle in hypotonischen Medien aufrecht zu erhalten und Veränderungen des osmotischen Außendrucks durch erhöhte oder verminderte Tätigkeit auszugleichen"). Es scheint mir aber, daß er der reinen Osmotheorie einen schlechten Dienst erwiesen hat. Erstens kann man aus dem Verhalten der pulsierenden Vakuole unmittelbar nach der Übertragung in ein Medium anderer Konzentration keine Schlüsse ziehen,

[1]) Nachtrag bei der Korrektur: Nachdem es mir gelungen war, Tiere vom Müllerschen Fundort zu erhalten (vgl. die Fußnote auf S. 390), nahm ich auch an ihnen Anpassungsversuche vor: sie ließen sich bis 0 % Salzgehalt herunter-, bis 4 % hinaufführen. In beiden Medien wurden die Tiere 8—12 Tage beobachtet.

was aus den Ergebnissen der vorstehenden Untersuchungen und denjenigen Kamadas wohl deutlich genug hervorgeht. Abgesehen von den kleinen von M. berücksichtigten Salzgehaltsintervallen schreibt er ferner z. B. für *Amoeba proteus* (S. 354/355): „Es sind also weder Dauer, noch Endvolumen, noch Exkretionswert für die Vakuolen einer Amöbe bei gleichen äußeren Bedingungen charakteristisch, sondern sie schwanken innerhalb recht weiter Grenzen. Es müssen hierfür innere Ursachen, wahrscheinlich stoffwechselphysiologischer Art" (von mir gesperrt), „maßgeblich sein. Doch sind die Schwankungen während der 4—5 Stunden Versuchszeit, die zur Durchführung einer Amöbe durch eine Wasserreihe nötig sind, nicht so groß, daß sie den Wert der Ergebnisse beeinträchtigen könnten." Meines Erachtens wäre es unbedingt nötig gewesen, daß Müller diesen „inneren Ursachen" einmal näher nachgegangen wäre; es hätte sein Urteil dann vielleicht geändert.

Daß der Wasserdurchstrom bei den Protisten weder eine alleinige Funktion des Salzgehaltes noch eine solche der Körpergröße ist, wurde bereits erwähnt. Wenn bei marinen Ciliaten, oder überhaupt bei solchen, die in salzhaltigem Wasser leben, der Wasserdurchstrom gering ist, so könnte man an eine geringe CO_2-Produktion mariner Tiere denken, wie das neuere Untersuchungen für verschiedene Tiere ergaben, Ludwig für Ciliaten annahm und Hayes, 1930 für *Paramecium* bestätigte.

Zusammenfassung.

1. Die hier untersuchte *Frontonia marina* entstammt der Arterner Friedhofsquelle von 4,38 Proz. Salzgehalt.

2. Die morphologischen Daten (Teil 2) über *Frontonia marina*, die von Fabre-Domergue, 1891 stammen, wurden nachgeprüft und ergänzt. Unter anderem wurde die Existenz von stets mehr als zwei Micronuclei, von zwei Zuführungskanälen zur pulsierenden Vakuole und eines Verdauungsplasmas festgestellt.

3. Beobachtungen über die Nahrungsaufnahme von *Frontonia marina* zeigten, daß dieses Tier, wiewohl zu der Gruppe der „Strudler" gehörig, die in der Regel aus größeren Algen usw. bestehende Nahrung nach Art der „Schlinger" aufnimmt. Die Nahrungsstücke werden unter Mithilfe des ganzen Körpers in das Zellinnere gedrückt und allmählich hineingewürgt.

4. Das durchschnittliche Zeitintervall zwischen zwei Entleerungen der pulsierenden Vakuole beträgt für Tiere im normalen Medium (4,38 Proz. Salzgehalt) 172,95 $\pm$ 4,13 Sek.

5. Nach allmählicher Verringerung des Salzgehaltes von 4,38 Proz. auf 0 Proz., bzw. nach allmählicher Steigerung von 4,38 Proz. bis zu 12,55 Proz. zeigen die Tiere, die sich mindestens drei Tage im letzten Medium aufgehalten hatten, keine Beschleu-

nigung bzw. Verlangsamung der Pulsationsfrequenz; vielmehr bleibt die ursprüngliche Frequenz erhalten, in der Regel sogar innerhalb des einfachen mittleren Fehlers (Abb. 1).

6. Direkte Übertragung aus dem normalen in hypotonisches bzw. hypertonisches Medium war bis zu Konzentrationen von 0,4 Proz. bzw. 9 Proz. möglich. Es ergab sich, daß unmittelbar nach der Übertragung die Pulsationsfrequenz steigt bzw. sinkt — um so erheblicher, je größer der Konzentrationsunterschied war —, daß jedoch innerhalb von 48—120 Stunden die ursprüngliche Pulsationsfrequenz wieder erreicht wird und fortan erhalten bleibt.

7. Weder bei allmählicher noch bei plötzlicher Übertragung in die angegebenen Konzentrationen waren irgendwelche Quellungs- und Schrumpfungserscheinungen am Zellkörper feststellbar. Nach Zerschneiden der Tiere in beliebigem Medium quillt das Plasma nur leicht vor und erstarrt bald an der freien Oberfläche; das Tier vermag weiterzuleben und gut zu regenerieren.

8. Aus den Ergebnissen 5 und 6 folgt, daß *Frontonia marina* „bestrebt ist", bei allen Konzentrationen des Außenmediums einen Wasserdurchstrom durch die Zelle von konstantem Ausmaß aufrecht zu erhalten. Das gelingt ihr auch in dem Intervall von 0—12,55 Proz. Salzgehalt, in dem sie überhaupt lebensfähig ist.

9. Weil nach direkter Übertragung in ein wesentlich höher oder schwächer konzentriertes Medium die pulsierende Vakuole schneller bzw. langsamer pulsiert, wird geschlossen, daß am Pulsationsmechanismus osmotische Faktoren mindestens zum Teil im Spiele sind. In Verbindung mit Punkt 5 und 6 ergibt sich der Schluß, daß *Frontonia marina* entweder bei beliebiger Konzentration des Außenmediums einen Unterschied des osmotischen Druckes zwischen Plasma und Außenmedium von konstanter Höhe aufrecht erhält, oder daß — was namentlich für sehr hohe Salzkonzentrationen in Betracht käme — zur Aufrechterhaltung des konstanten Wasserdurchstromes andere Kräfte (vielleicht elektroendosmotischer Art) zu Hilfe kommen (vgl. auch Kamada).

10. Daß *Frontonia marina* „unter allen Umständen" einen Wasserdurchstrom konstanter Höhe durch die Zelle aufrecht zu erhalten sucht, ist mit der reinen Osmotheorie unvereinbar (pulsierende Vakuole als reines Schutzorganell gegen Aussüßung). Vielmehr muß geschlossen werden, daß der Wasserdurchstrom eine Funktion zu erfüllen hat, wobei man vor allem an Exkretion (z. B. des CO_2) zu denken hat. Die pulsierende Vakuole muß also bei *Frontonia marina*

ein mindestens teilweise auf osmotischer Grundlage basierendes Exkretionsorganell sein (Ludwig).

11. Mit dieser Ansicht stimmen die Befunde an Hungertieren (Zucht in filtriertem, nahrungsfreiem Wasser) überein; bei ihnen ist der Vakuolenrhythmus verlangsamt, kehrt aber nach Fütterung wieder zur Norm zurück.

12. Die Süßwasserform *Frontonia leucas* kann im Salzwasser bis zu 0,8 Proz. Salzgehalt überführt werden. Ihre Vakuole zeigt nach Überführung in höhere Konzentrationen das an *Frontonia marina* (Punkt 5 u. 6) beschriebene Verhalten, bestätigt also zugleich die Befunde Kamadas an *Paramecium*.

13. Das Pulsationsintervall zeigt unter gleichen Bedingungen bei demselben Tier oder bei verschiedenen Tieren eine Variabilität bestimmter Größe; diese ist bei der normalen Außenkonzentration (4,38 Proz.) am größten. Die gleiche Variabilität zeigt sich bei Geschwistertieren, Teilungsstadien mit noch vorhandener Plasmabrücke und bei Konjuganten. Die Befunde an letzteren Tiergruppen deuten auf nicht ausschließlich (bzw. grob) osmotische Bedingtheit des Vakuolenspiels hin.

Literaturverzeichnis.

Adolph, E. F. (1926): The metabolism of water in Amebae as measured in the contractile vacuole. Journ. exp. Zool. Vol. 44.

Allman, G. R. (1855): On the occurence among the Infusoria of peculiar organs resembling thread-cells. Journ. of. Micr. Sci. Vol. 3.

Brandt, K. (1881/82): Färbung lebender einzelliger Organismen. Biol. Cbl. Bd. 1.

Brodsky, A. (1924): Die Trichocysten der Infusorien. Arch. Russ. Prostil. Bd. 3.

— (1908): Observations sur la structure intime de Fr. leucas. Rev. Suisse Zool. T. 16.

Degen, A. (1905): Untersuchungen über die kontraktile Vakuole und die Wabenstruktur des Protoplasmas. Bot. Ztg. Vol. 63 Abt. 1.

Dimitrowa, A. (1928): Untersuchungen über die überzähligen pulsierenden Vakuolen bei Paramaecium caudatum Ehrbg. Arch. f. Protistenk. Bd. 64.

Fabre-Domergue, P. (1891): Frontonia marina nov. spec. Ann. de Micrographie Vol. 3.

Doflein-Reichenow (1929): Lehrbuch der Protozoenkunde. 5. Aufl.

Fortner, H. (1928): Zur Kenntnis der Verdauungsvorgänge bei Protisten. Studien an Paramaecium caudatum. Arch. f. Protistenk. Bd. 61.

Gelei, J. v. (1925): Nephridialapparat bei den Protozoen. Biol. Zbl. Bd. 45.

— (1928): Nochmals über den Nephridialapparat bei den Protozoen. Arch. f. Protistenk. Bd. 64.

Griffiths, A. B. (1888/89): A method demonstrating the presence of uric acid in the contractile vacuoles of some lower organisms. Proc. Roy. Soc. Edinburgh Vol. 13.

Griessmann, K. (1914): Über marine Flagellaten. Arch. f. Protistenk. Bd. 32.

Hance, R. T. (1917): Studies on a race of Paramaecium possessing extra contractile vacuoles. Journ. exp. Zoölogy Vol. 23.

Haye, A. (1930): Über den Exkretionsapparat bei den Protisten, nebst Bemerkungen über einige andere feinere Strukturverhältnisse der untersuchten Arten. Arch. f. Protistenk. Bd. 70.

Hayes, F. R. (1930): The physiological response of Paramaecium to sea-water. Ztschr. f. vergl. Phys. Bd. 13.

Herfs, A. (1922): Die pulsierende Vakuole der Protozoen ein Schutzorgan gegen Aussüßung. Arch. f. Protistenk. Bd. 44.

Howland, R. B. (1924): On excretion of nitrogenous waste as a function of the contractile vacuole. Journ. exper. Zool. Vol. 40.

Jennings, H. J. (1897): Studies on an reactions to stimuli in unicellular organisms. Journ. Physiol. Vol. 21.

Kahl, A. (1935): Ciliata. In: Die Tierwelt Deutschlands und der angrenzenden Meeresteile. Jena.

Kamada, T. (1935): Contractile Vacuole of Paramecium. Journ. of the Faculty of Science, Tokyo. Imp. University Vol. 4.

Kitching, J. A. (1934): The physiology of contractile vacuoles. Journ. exper. Biol. Vol. 11.

Klein, Br. M. (1928): Arbeiten über Silberliniensystem. Arch. f. Protistenk. Bd. 62.

— (1929): Ibid. Bd. 65.

— (1933): Ibid. Bd. 79.

Koch, A. (1916): Die Funktion der pulsierenden Vakuole. Die Naturwissenschaften Vol. 4.

Krüger, Fr. (1931): Dunkelfelduntersuchungen über den Bau der Trichocysten von Frontonia leucas. Arch. f. Protistenk. Bd. 74.

Lepsi, J. (1926): Die Infusorien des Süßwassers und Meeres. Berlin.

Ludwig, W. (1927): Die Ursachen der extremen Giftwirkung der Schwermetallionen, sowie der Verunreinigungen von Wasser und Glas auf Paramecium aurelia. Ztschr. f. vergl. Physiol. Bd. 6.

— (1928): Der Betriebsstoffwechsel von Paramaecium caudatum. Zugleich ein Beitrag zur Frage nach der Funktion der kontraktilen Vakuolen. Arch. f. Protistenk. Bd. 62.

— (1929): Untersuchungen über die Schraubenbahnen niederer Organismen. Ztschr. f. vergl. Physiol. Bd. 9.

Müller, R. (1936): Die osmoregulatorische Bedeutung der kontraktilen Vakuolen von Amoeba proteus, Zoothamnium hiketes und Frontonia marina. Arch. f. Protistenk. Bd. 87.

Nassonov, D. (1924): Der Exkretionsapparat (kontraktile Vakuole) der Protozoa als Homologon des Golgischen Apparates der Metazoazellen. Roux' Arch. Bd. 103.

— (1925): Zur Frage über den Bau und die Bedeutung des lipoiden Excretionsapparates bei Protozoa. Ztschr. f. Zellforschg. u. Mikr. Anat. Bd. 2.

Reichenow, siehe Doflein-Reichenow.

Schewiakoff, W. (1894): Über die Natur der sog. Exkretkörner der Infusorien. Ztschr. f. wiss. Zool. Bd. 57.

Schuberg, A. (1905): Über Cilien und Trichocysten einiger Infusorien. Arch. f. Protistenk. Bd. 6.

Steiner, G. (1935): Der Einfluß der Salzkonzentration auf die Temperaturabhängigkeit verschiedener Lebensvorgänge. Ztschr. f. vergl. Physiol. Bd. 21.

Thumm, K., R. Kolkwitz und P. Schiemenz (1917): Bericht der Kgl. Landesanstalt für Wasserhygiene über Untersuchungen im Bereiche des Flutkanals der Unstrut in der Zeit vom 3.—8. Juli 1915. Mitt. Kgl. Landesanstalt f. Wasserhyg. H. 22.

Tönniges, C. (1914): Die Trichocyten von Frontonia leucas (Ehrbg.) und ihr chromidialer Ursprung. Arch. f. Protistenk. Bd. 32.

Weatherby, J. H. (1927): The function of the contractile vacuole in Paramaecium caudatum, with special reference to the excretion of nitrogenous compounds. Biol. Bull. Vol. 52.

Wetzel, A. (1925): Vergleichend-zytologische Untersuchungen an Ciliaten. Arch. f. Protistenk. Bd. 51.

Zuelzer, M. (1910): Der Einfluß des Meerwassers auf die pulsierende Vakuole. Roux' Arch. Bd. 29.

Die Originaltabellen zu den vorstehenden Mittelwertstabellen sind im Zool. Institut der Universität Halle/S. aufbewahrt.

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: Archiv für Protistenkunde

Jahr/Year: 1936

Band/Volume: 88_1936

Autor(en)/Author(s): Oberthür K.

Artikel/Article: Untersuchungen an Frontonia marina Fabre-Dom. aus einer Binnenland-Salzquelle unter besonderer Berücksichtigung der pulsierenden Vakuole. 387-420