

- Fig. 5. Aspetto di proglottidi della catena dell' *H. riggenbachi*, ingrandito 150 volte.
 Fig. 6. Proglottidi della catena dell' *H. riggenbachi*, viste dal dorso da una preparazione in toto per compressione ingrandite 250 volte.
 Fig. 7. Proglottide della catena dell' *H. rosenthali*, vista dal dorso, da una preparazione in toto ingrandita 155 volte.

Lettere comuni a tutte le figure.

<i>at</i> = atrio genitale.	<i>ri</i> = ricettacolo seminale.
<i>de</i> = dotti escretori	<i>vse</i> = vescicola seminale esterna.
<i>ef</i> = efferenti.	<i>vs</i> = vescicola seminale interna.
<i>ov</i> = ovario.	<i>t</i> = testicoli.
<i>p</i> = pene.	<i>ogf</i> = abbozzi degli organi genitali femminili.
<i>tp</i> = tasca del pene.	<i>un</i> = uncini.
<i>v</i> = ventose.	<i>vit</i> = vitellogeno.
<i>oa</i> = vagina.	

Experimentelle Untersuchungen an Infusorien.

(Vorläufige Mitteilung.)

Von Victor Jollos.

Der Aufschwung, den die experimentelle Forschung in der Biologie, vor allem auch für die Fragen der Vererbung und Artbildung genommen hat, ist auf dem Gebiete der Protistenkunde bisher verhältnismäßig wenig zur Geltung gelangt. Zytologische und entwicklungsgeschichtliche Probleme sind es, die hier durchaus noch vorherrschen, und neben ihnen ist die Zahl der experimentellen Arbeiten gering und noch bescheidener die gewonnenen gesicherten Ergebnisse.

Der wesentlichste Grund hierfür dürfte in dem häufig beobachteten „inkonstanten Verhalten“ der Protisten zu suchen sein, ein Umstand, der nicht allein zu Widersprüchen in den Angaben verschiedener Autoren führte, sondern der sich auch in den eigenen Versuchsreihen wohl eines jeden Forschers störend bemerkbar machte, der längere Zeit eingehender mit Infusorien — dem beliebtesten Material für experimentelle Protistenuntersuchungen — gearbeitet hat.

Auf äußere wie innere Bedingungen lässt sich dieses „inkonstante Verhalten“ zurückführen: So ist eine der wichtigsten Fehlerquellen schon dadurch gegeben, dass man die Ernährung und damit auch die chemische Zusammensetzung des umgebenden Mediums nicht völlig exakt regulieren kann (da ja die meisten Infusorien in erster Linie Bakterien aufnehmen). Schon minimale Abweichungen in der Konzentration verschiedener Ionen können aber, wie vor allem auch aus den Untersuchungen von Enriques und Zweibaum¹⁾ hervorgeht, das Verhalten der Infusorien sehr wesentlich beeinflussen.

1) Enriques et Zweibaum: La conjugaison et la différenciation sexuelle chez les Infusoires. V. Arch. f. Protistenk., Bd. 26.

Zu diesem vorläufig nicht völlig ausschaltbaren Faktor kommen nun weitere zwar vermeidbare, aber nur selten vermiedene, die sich aus der verschiedenen Beschaffenheit der verwandten Infusorien ergeben:

Durch die schönen Arbeiten von Jennings²⁾ ist gezeigt worden, dass auch bei den Infusorien innerhalb einer systematischen Art zahlreiche konstant verschiedene Rassen vorhanden sind. Und was Jennings hauptsächlich für die Größe nachweisen konnte, das gilt, wie wir noch sehen werden, auch für jedes physiologische Verhalten — in welcher Richtung wir es immer genauer untersuchen. — Für die experimentelle Untersuchung ist aber ferner nicht nur ein einheitliches, sondern auch ein genau bekanntes Ausgangsmaterial nötig. Sein Verhalten muss also zunächst während längerer Zeit studiert werden, damit man jede Störung in den Kulturen, besonders beginnende Degeneration, gleich erkennt und berücksichtigt. Auch diese bei Versuchen mit höheren Organismen wohl selbstverständliche Forderung ist bei den Protisten bisher kaum beachtet worden. —

Verwendet man nun aber einheitliches Material (d. h. „reine Linien“) von gleichem Zustande und bei möglichst gleichen Kulturbedingungen, so kann man in der Tat einigermaßen gleichmäßige experimentelle Resultate erzielen — vorausgesetzt allerdings noch, dass man nicht mit vorübergehend, sondern mit längere Zeit — mindestens 24 Stunden — einwirkenden Faktoren arbeitet.

Gleichmäßig werden die so gewonnenen Ergebnisse innerhalb der „reinen“ oder sagen wir wohl präziser „Individual“³⁾-Linie; bei den verschiedenen Linien können sie dagegen recht erheblich voneinander abweichen, und auch mit manchen geläufigen Anschauungen stimmen sie nicht immer überein.

Dies zeigt sich schon auf dem relativ viel bearbeiteten Gebiete der Einwirkung verschiedener Temperaturen auf Infusorien, und zwar speziell auf *Paramecium caudatum*, welche Art auch bei allen folgenden Versuchen als Material diene.

Wohl allgemein wird angenommen, dass Paramecien bei höheren Temperaturen kleiner, bei niedrigeren größer werden. Eine plausible Erklärung für ein solches Verhalten ist eigentlich nicht gegeben worden: etwaige Veränderungen der Kernplasmarelation (R. Hertwig) bedürften selbst erst einer Erklärung; und der Hinweis auf die Beschleunigung der Teilungsfrequenz bei steigender Temperatur gemäß der van t'Hoff'schen Regel führt erst recht nicht weiter. Denn handelt es sich bei der Teilung um chemische

2) Jennings, H. S. and Hargitt, G. T.: Characteristics of the diverse races of *Paramecium*. Journ. of Morphology, vol. 21, 1910.

3) D. h. eine aus einem einzigen Individuum entstandene Linie.

Prozesse, so gilt dies von den Wachstumsvorgängen doch sicherlich nicht minder.

Tatsächlich ist aber das Verhalten der Paramaecien bei Temperaturveränderungen ein komplizierteres: In dreierlei Weise können Individuallinien von Paramaecium auf Versetzung in höhere Temperatur reagieren: Die Infusorien werden entweder größer (resp. behalten ihre Größe ungefähr bei) oder sie werden schnell und dauernd kleiner; und drittens endlich verkleinern sie sich zunächst, um aber dann nach einiger Zeit wieder anzuwachsen⁴⁾.

Nur im letzten Falle ließen sich die Kulturen beliebig lange und ohne Schädigung bei der höheren Temperatur führen. Die Infusorien der beiden ersten Gruppen gingen dagegen stets über kurz oder lang ein. Werden also Individuallinien von Paramaecium bei Versetzung in höhere Temperatur von vornherein größer oder schnell und ständig kleiner, so ist dies ein Zeichen dafür, dass die betreffende Linie (unter sonst gleichen Bedingungen) bei der verwandten höheren Temperatur nicht mehr dauernd lebensfähig bleibt. Einige Zeit — in meinen Versuchen bis zu 8 Wochen! — vermag sie freilich mitunter noch weiter zu wachsen — ein Beweis, wie langsam derartige degenerative Prozesse verlaufen können. —

Bei Versetzung der Paramaecien in niedrigere Temperatur kann man ein dem vorher beschriebenen reziprokes Verhalten beobachten, d. h. die Infusorien wachsen entweder rasch und ständig an (und erweisen sich dann bei der tieferen Temperatur nicht lebensfähig) oder sie werden nach einer längeren Wachstumsperiode wieder kleiner. Ein sofortiges Kleinerwerden der Paramaecien bei herabgesetzter Temperatur, das dem sofortigen Anwachsen (Fall 1) bei Versetzung in eine höhere entspräche, wurde dagegen bisher nicht beobachtet.

All diese Verhältnisse seien noch an einem während längerer Zeit genauer verfolgten Beispiele im einzelnen belegt:

Die Individuallinie *a* wurde dauernd bei 19° gehalten und besaß hierbei unter den angewandten und während der ganzen Beobachtungsdauer nicht veränderten Kulturbedingungen eine Durchschnittslänge von 41,35 Maßeinheiten⁵⁾. In 31° versetzt wurde sie zunächst erheblich kleiner, doch sind während dieser Zeit keine genauen Messungen vorgenommen worden. Nach 6 Monaten Kultur bei 31° war ihre Länge aber wiederum 41,28 und blieb nunmehr ziemlich

4) Fast gleichzeitig und völlig unabhängig von mir hat auch Herr V. Weiss bei Untersuchungen über die Kernplasmarelation ein derartiges Wiederanwachsen von Paramaecien bei erhöhter Temperatur festgestellt.

5) Gemessen mit Leitz Objektiv 7 und Zeiss Okularmikrometer (Kompensok. 6). Es handelt sich um eine sehr kleine Rasse. — Die Breite der Infusorien änderte sich im gleichen Sinne wie die Länge und kann daher hier übergangen werden.

unverändert. So wurde nach 7 Monaten eine Durchschnittslänge von 42,02, nach 8 Monaten eine solche von 41,4 festgestellt.

Nach 7monatlicher Kultur bei 31° wurde die Linie wieder in die Ausgangstemperatur von 19° zurückversetzt. Die Messungen ergaben nunmehr nach 4 Tagen eine Länge von 45,3 nach 1 Monate dagegen 41,6.

Ein anderer Teil der Linie α wurde nach 7monatlicher Kultur bei 31° in 8° gebracht und maß hier nach 7 Tagen 48,38, nach 22 Tagen 41,4.

Bei der Versetzung der Individuallinie sowohl in höhere wie in niedrigere Temperatur ist also nach einer Periode des Kleiner- resp. Größerwerdens eine Rückkehr zur Ausgangsnorm zu beobachten. Im Falle unserer Linie α wurde diese Norm zu wiederholten Malen vollkommen erreicht, bei den meisten anderen untersuchten Linien kam die rückläufige Bewegung dagegen schon erheblich früher zum Stillstand. Bei einer Linie endlich trat dagegen eine Überregulation ein. Es hatte nämlich Linie 11 bei 19° eine Länge von 43,53, bei 31° am vierten Tage nur noch von 35,2, am 42. Tage aber von 45,1 Maßeinheiten.

Verschieden wie der Grad der Regulation ist auch die Zeit, die bis zu ihrer Vollendung von den verschiedenen Stämmen beansprucht wird, und zwar schwankte sie bei der Versetzung von 19° in 31° zwischen 1 und 8 Wochen, während sie bei Überführung in eine entsprechend tiefere Temperatur stets erheblich länger — bis zu 4 Monaten dauerte.

(Bei diesen Differenzen zwischen manchen Stämmen dürfte allerdings auch die verschiedene Empfindlichkeit der einzelnen Linien gegenüber geringfügigen Schwankungen der Lebensbedingungen von Bedeutung sein. So ließen sich z. B. mit den mir zur Verfügung stehenden Thermostaten gelegentliche Temperaturschwankungen bis zu 1 oder 2° bei länger dauernden Versuchen nicht vermeiden; Schwankungen, auf die manche Individuallinien von *Paramecium* schon sehr deutlich reagieren, während sie an anderen anscheinend spurlos vorübergehen.)

Worauf ist nun diese Regulation der Größe der *Paramecien* bei Temperaturveränderungen zurückzuführen? Zur Klärung dieser Frage war zunächst die Teilungsfrequenz der Infusorien bei verschieden langer Einwirkung verschiedener Temperaturen zu prüfen. Für die Individuallinie α ⁶⁾ ergaben sich hierbei innerhalb 48 Stunden: bei 19° (nicht ganz) 3 Teilungsschritte, bei Versetzung in 31° — 9 Teilungsschritte, nach 6monatlicher Kultur dagegen nur 7. Stets

6) Andere Stämme ergaben weniger eindeutige Ergebnisse, zumal da nicht selten bei plötzlicher Versetzung in eine um 12° höhere Temperatur in den ersten 24 Stunden oder noch länger überhaupt keine Teilung erfolgt.

ergab sich also bei einer um 12° höheren Temperatur eine etwa 2—3fache Beschleunigung der Teilungsfrequenz, ein Verhalten, das (wie schon besonders von Woodruff gezeigt worden ist) der van t'Hoff'schen Regel entspricht. Neben dieser allgemeinen Gesetzmäßigkeit lässt sich aber auch innerhalb der durch sie gegebenen Grenzen eine Verlangsamung der Teilungsfrequenz nach erfolgter Gewöhnung an die höhere Temperatur feststellen.

Berücksichtigen wir endlich noch den Umstand, dass man durch Einwirkung mancher chemischer Verbindungen die Teilungsfähigkeit der Infusorien hemmen und auf diese Weise Riesenindividuen erzielen kann, so lässt sich aus allen mitgeteilten Beobachtungen wohl nur der eine Schluss ziehen, dass Wachstum und Teilung nicht in unmittelbarem Zusammenhange stehen. Vielmehr muss es sich hierbei um wenigstens zwei bis zu einem gewissen Grade unabhängig voneinander veränderliche Faktoren handeln, von denen der „Wachstumsfaktor“ durch Temperaturveränderungen offenbar gleichmäßig und entsprechend der van t'Hoff'schen Regel beeinflusst wird, während der „Teilungsfaktor“ bei Temperaturerhöhung zunächst eine stärkere Erregung, bei Temperaturerniedrigung eine stärkere Lähmung erfahren kann. Für die dauernde Lebensfähigkeit der Paramaecien ist aber ein bestimmter „Gleichgewichtszustand“ beider Faktoren erforderlich, der sich durch die nicht weiter schwankende Zellgröße anzeigt, bei den verschiedenen Stämmen verschieden schnell erreicht wird und bei manchen (a) für alle nicht schädigenden Temperaturen der gleiche ist. —

Für die Fragen der Vererbung und Artbildung haben dagegen alle bisher behandelten Vorgänge keinerlei Bedeutung: Denn mögen die Individuallinien der Infusorien auch noch so lange bei den angegebenen höheren oder niedrigeren Temperaturen gehalten werden und mag dabei eine vollkommene oder nur eine geringfügige Regulation eintreten, stets⁷⁾ erweisen sie sich nach Zurückversetzung in die ursprünglichen Lebensbedingungen völlig unverändert, so dass es sich hier also nur um Modifikationen handelt.

Es lag nun nahe zu prüfen, wie weit sich die Paramaecien an extreme Temperaturen gewöhnen lassen, und ob nicht auf diesem Wege erbliche Veränderungen hervorgerufen werden können, wie dies übrigens schon von älteren Untersuchern für verschiedene Formen angegeben ist. — Arbeitet man mit ungeprüftem aus dem Freien geholten Material, also Populationen, so gelingt es in der Tat nicht selten, eine scheinbare, erbliche Verschiebung der „Kardinalpunkte“ zu erzielen. Am deutlichsten tritt dies hervor, wenn man von derselben Ausgangspopulation gleichzeitig Kulturen bei allmählich erhöhter wie auch bei fallender Temperatur hält. Prüft

7) Ein abweichender Fall wird noch am Ende dieser Arbeit besprochen.

und vergleicht man die Paramaecien dann nach einiger Zeit, so kann⁸⁾ es sich ergeben, dass zwar die Infusorien in beiden Kulturen gut gedeihen, dass aber die „Wärmekulturen“ bei der Temperatur der Kältetiere wie auch umgekehrt nicht existenzfähig sind, selbst wenn man die Temperatur nicht plötzlich, sondern allmählich wechselt. Obwohl nun die von demselben Ausgangsmaterial abgeleiteten beiden Stämme dauernd an verschiedene Temperaturen angepasst bleiben, handelt es sich bei diesem Versuch dennoch nicht um eine erbliche Veränderung der Reaktionsnorm, sondern nur um in entgegengesetzter Richtung durchgeführte Selektion verschiedener in der Population enthaltener Rassen — ganz wie bei den bekannten Experimenten von Johannsen oder Jennings.

Untersucht man nämlich bei einer größeren Anzahl von Individuallinien, zwischen welchen Temperaturen sie existieren können, so ergeben sich wiederum erhebliche Unterschiede. Während z. B. meine Linie *a* zwischen 6 und 37° ohne weiteres dauernd kultivierbar war (konstante tiefere Temperaturen standen mir nicht während längerer Zeit zur Verfügung) ließ sich Linie A — bei sonst gleichen Bedingungen! — nur zwischen 12 und 29°, Linie M zwischen 12 und 35° und Linie *a*₁ (von der später noch mehr die Rede sein wird) zwischen 6 und 39° ohne Schädigung halten. Endlich gibt Woodruff für eine seiner Kulturen an, dass sie nur zwischen 21,5 und 31,5° dauernd zu züchten wäre (eine Angabe, die aber wegen der verschiedenen sonstigen Kulturbedingungen nicht ohne weiteres mit den meinigen vergleichbar ist und bei der die hohe Minimaltemperatur auffällt). Wiederholt man nun mit einer „Individuallinie“ den für Populationen angegebenen Versuch der Verschiebung der Kardinalpunkte und kultiviert sie, von einem mittleren Punkt ausgehend, bei langsam steigender, resp. fallender Temperatur, so gedeihen die Infusorien innerhalb der für die betreffende Linie festgestellten Grenzen gut, innerhalb dieser nach den oben gemachten Angaben häufig recht weiten Grenzen ist aber in der Regel auch eine plötzliche Versetzung in höhere oder niedrigere Temperatur möglich. Sobald dagegen die Grenze nach einer Seite auch nur wenig überschritten ist, sterben die Kulturen fast immer ab. So konnte die Linie *a* (s. o.) aus 6° unmittelbar in 37° gebracht werden⁹⁾, ging aber bei Versetzung in 39° regelmäßig ein, gleichgültig, ob sie zuvor in 6°, 19° oder selbst 37° gewesen war und sich an diese Temperatur völlig akklimatisiert hatte.

Ein dauerndes Überschreiten der gewöhnlichen Temperaturgrenze ist bei manchen Linien überhaupt nicht zu erzielen gewesen.

8) Der Versuch gelingt natürlich um so eher, je umfangreicher und von je mehr verschiedenen Fundstellen das Ausgangsmaterial genommen wird.

9) Ein wechselnd großer Teil der Infusorien geht dabei freilich zugrunde, die übrigen aber gedeihen und vermehren sich gut und dauernd.

So war die Linie A, deren Maximaltemperatur bei 29° liegt, bei 30° nie länger als 3 Wochen kultivierbar, obwohl dies während 1 $\frac{1}{2}$ Jahren in regelmäßigen Abständen versucht wurde. Bei anderen Stämmen ist in einigen Fällen eine kleine Erweiterung der Grenzen erreicht worden; z. B. konnte α nach zahlreichen Fehlschlägen schließlich von 37 über 38 bis 39° gebracht werden — bei sonst gleichbleibenden Kulturbedingungen (Wechsel in der Ernährung scheint dies zu erleichtern, doch sind die Versuche hierüber noch nicht abgeschlossen).

Eine Verschiebung der Temperaturgrenzen ohne Schädigung der Infusorien erscheint also unter sonst unveränderten Bedingungen bei Individuallinien von *Paramecium* nur in bescheidenem Maße möglich¹⁰⁾, und auch wo sie erzielt worden ist, handelte es sich nicht um erbliche Veränderungen: Denn sobald derartige Kulturen wieder für einige Zeit bei niedrigerer Temperatur¹¹⁾ innerhalb der ursprünglichen Grenzen gehalten wurden, verloren sie auch die Fähigkeit, bei der höheren Temperatur dauernd zu existieren und mussten erst von neuem unter den gleichen Schwierigkeiten wie zuvor daran gewöhnt werden.

Vom Standpunkt der Vererbungslehre betrachtet handelt es sich also auch bei diesen Gewöhnungen an extreme Temperaturen ebenso wie bei den eingangs behandelten Reaktionen auf Temperaturveränderungen überhaupt nur um Modifikationen.

Neben derartigen Modifikationen können aber unter dem Einfluss der Temperatur auch anders zu wertende, da erbliche Veränderungen innerhalb einer Individuallinie vom *Paramecium* auftreten. Bevor wir jedoch hierauf eingehen, sollen noch die auf einem anderen Gebiete, nämlich unter Einwirkung von Giften, speziell Arsenverbindungen, festzustellenden Veränderungen der Reaktion der Infusorien betrachtet werden.

Von vornherein waren hier günstige Verhältnisse für Fragen der Vererbung zu erhoffen, wissen wir doch vor allem durch die schönen Untersuchungen von P. Ehrlich und seinen Mitarbeitern, wie sehr das Verhalten von parasitischen Protisten gegenüber Arsenverbindungen und anderen Giften verändert werden kann: Trypanosomen und Spirochäten lassen sich durch Behandlung mit nichttödlichen Dosen gegen die betreffende chemische Verbindung (unter Umständen gleichzeitig auch gegen andere) in hohem Maße „fest“ machen, so dass sie schließlich ein Mehrfaches der ursprünglich tödlichen Dosis ohne jede Schädigung ertragen.

10) Wenigstens bei der mir zur Verfügung stehenden Abstufung der Thermostaten von (im günstigsten Falle) Grad zu Grad. Bei langsamerer Steigerung der Temperatur ist ja vielleicht mehr zu erzielen.

11) Eine Überschreitung der ursprünglichen Temperaturgrenze ist bisher nur nach oben hin durchgeführt worden.

Und diese „Gift(in anderen Fällen Serum-)festigkeit“ kann auch bestehen bleiben, wenn die betreffenden Trypanosomen monate- ja selbst jahrelang unter zahllosen Teilungen und bei den verschiedensten Tierpassagen weitergezüchtet werden, ohne wieder mit dem Gift in Berührung zu kommen. Ehrlich fasst sie daher als experimentell erzeugbare Mutationen auf. Vom biologischen Standpunkt aus ist jedoch Wesen und Entstehung derartiger „giftfester Stämme“ bisher nicht genauer analysiert; auch lässt sich eine solche Prüfung gerade bei Trypanosomen und Spirochäten wegen der komplizierten Lebensbedingungen und unserer noch immer nicht lückenlosen Kenntnis des Entwicklungsganges dieser Protisten nur schwer durchführen. Demgegenüber erschienen wieder die Paramaecien wegen ihrer guten Kultivierbarkeit und wegen des Vorhandenseins sowohl von vegetativer Vermehrung wie von geschlechtlichen Vorgängen in mancher Hinsicht als günstigeres Objekt.

Geprüft wurde das Verhalten sowohl gegenüber verschiedenen organischen As.-Verbindungen wie auch gegenüber einer $\frac{1}{10}$ n-Lösung arseniger Säure (der der besseren Löslichkeit wegen etwas Na_2CO_3 zugefügt war), doch soll hier nur auf diese letzten Versuche näher eingegangen werden: — Wiederum müssen wir zwischen dem Verhalten von Populationen und dem von Individuallkulturen unterscheiden. Denn da auch in der Widerstandsfähigkeit gegen dieses Gift Rassenunterschiede nachweisbar sind, so kann schon allein durch Selektion einer besonders resistenten Linie aus der Population eine beträchtliche „Giftfestigung“ der Infusorien vorgetäuscht werden, schwankte doch die gerade tödliche Dosis bei den von mir untersuchten (etwa 50) verschiedenen Stämmen¹²⁾ zwischen 0,3 und 1,1 % der verwandten Lösung.

Innerhalb einer Individuallinie bleiben dagegen entsprechende Selektionsversuche zunächst völlig erfolglos. Man kann die Giftkonzentration leicht derartig wählen, dass nur einige wenige Paramaecien der Linie länger als 48 Stunden darin am Leben bleiben. Züchtet man diese dann arsenfrei weiter und lässt auf die so erhaltene neue Kultur wieder die gleiche Arsenmenge wie zuvor einwirken, so erhält man genau das gleiche Ergebnis wie beim ersten Male: Wieder gehen die Paramaecien bis auf einige wenige innerhalb 48 Stunden ein. Und hieran änderte sich nichts, auch wenn man den Versuch Dutzende von Malen hintereinander in gleicher Weise fortsetzte.

Innerhalb der Individuallinien ließ sich also allein durch Selektion keine Erhöhung der Giftresistenz erzielen, und nicht viel weiter kommt man in der Regel merkwürdigerweise auch durch allmähliche Gewöhnung der Paramaecien an arsenige Säure.

12) Unter diesen befanden sich mindestens 6 sicher verschiedene Rassen.

Wurde z. B. zu 100 ccm einer Kultur der Linie A, für die 1:100, meiner Lösung eben tödlich war (innerhalb spätestens 48 Std.), täglich $1\frac{1}{2}$ ccm der arsenigen Säure zugesetzt, so waren die Infusorien stets spätestens am 26. Tage, gewöhnlich sogar schon zwischen dem 20. und 25. Tage ausgestorben. Bei anderen Linien und bei noch langsamerer Steigerung der Konzentration kann man allerdings etwas mehr erreichen. So ließ sich die Linie B, die normalerweise durch 1,1:100 abgetötet wurde, bis an 1,9:100 gewöhnen¹³⁾.

Ganz wie an höhere Temperaturen lassen sich also die Individuallinien von *Paramaecium* nur relativ wenig, manche so gut wie gar nicht an höhere Konzentrationen von arseniger Säure anpassen. Und auch darin stimmen die Temperatur- mit den Giftversuchen überein, dass es sich bei einer solchen durch allmähliche Steigerung erzielten Gewöhnung nicht um erblich fixierte Veränderungen, sondern nur um Modifikationen handelte. Denn auch die Giftfestigkeit ging diesen *Paramaecien* wieder verloren, sobald sie in arsenfreiem Medium weiter kultiviert wurden.

Neben derartigen gewöhnlichen Modifikationen konnte nun aber während der 2 Jahre, die diese Untersuchungen bisher dauern, in mehreren Fällen eine anders geartete Giftfestigung erreicht werden, die auch bei Kulturen in arsenfreiem Medium erhalten blieb. Fünf gegen arsenige Säure gefestigte Stämme entstanden in der Weise, dass man die Kulturen während mehrerer Wochen unter Einwirkung von etwa der Hälfte der gerade tödlichen Dosis züchtete und dann in regelmäßigen Intervallen die Konzentration für kurze Zeit bis über die tödliche Dosis hinaus steigerte, um sie nach Abtötung eines großen Teils der *Paramaecien* wieder herabzusetzen. — Ein sechster giffester Stamm bildete sich „spontan“ aus einer durch einmalige Hinzufügung einer etwas zu großen Giftmenge zunächst anscheinend vollständig abgetöteten, aber doch noch längere Zeit kontrollierten Individuallinienkultur.

Während die Ausgangslinien stets bei einer Konzentration von 0,8—1,1:100 innerhalb 48 Stunden eingingen, konnten durch das angegebene monatelang fortgesetzte Verfahren Stämme erzielt werden, die noch gegen 3—3,5:100 resistent waren. Der spontan aus der einen Konzentration von 1,1:100 nicht mehr tragenden Linie B entstandene Stamm B₁ hielt sich schließlich noch gegenüber 5:100, ohne erkennbar geschädigt zu werden.

Es handelt sich in diesen Fällen also um eine ganz wesentlich höhere Resistenz als bei den allmählich an arsenige Säure gewöhnten

13) Es sei hierbei besonders betont, dass unter „Gewöhnung“ stets eine dauernde Lebens- und Vermehrungsfähigkeit der Infusorien zu verstehen ist und nicht nur eine zeitliche Hinausschiebung der Abtötung, wie sie von verschiedenen Autoren, die mit wesentlich stärkeren Giftkonzentrationen arbeiteten, bereits beschrieben wurde.

Paramaecien. Auch rein äußerlich lassen sich beide gefestigten Gruppen meist unschwer auseinanderhalten, da die an das Gift gewöhnten Infusorien in der Regel größer als die unbeeinflusste Ausgangslinie waren, während die giftfesten Stämme keinen derartigen Unterschied aufwiesen. Da endlich die giftfesten Paramaecienstämme auch bei wochenlanger Kultur in arsenfreiem Medium ihre Resistenz beibehielten, so lag die Vermutung nahe, dass wir es hier im Gegensatz zu den zuvor behandelten gewöhnlichen Modifikationen mit Mutationen zu tun hätten, — eine Vermutung, die aber durch das weitere Verhalten der giftfesten Stämme nicht bestätigt wurde.

Betrachten wir zunächst die weitere Geschichte des Stammes B_1 , der, wie oben angegeben, noch gegen eine Konzentration von 5:100 resistent geworden war. Der Stamm wurde nunmehr dauernd in arsenfreiem Medium bei 31° weiter gezüchtet und daraus entnommene Proben in regelmäßigen Zwischenräumen — anfangs täglich, dann wöchentlich, später alle 2 Wochen — auf ihre Giftfestigkeit hin geprüft. Während 7 Monaten (von Oktober 1911 bis Mai 1912) blieb die Resistenz gegenüber der Konzentration von 5:100 unverändert erhalten, anders wurde dies jedoch im 8. Monate: Jetzt gingen Proben aus der Kultur unter sonst gleichen Bedingungen bei dieser Konzentration regelmäßig ein, vertrugen aber noch 4:100, und nun ging die Giftfestigkeit immer weiter und schneller zurück: nach $9\frac{1}{2}$ Monaten betrug die „maxima tolerata“-Dosis nur mehr 2,5:100, nach $10\frac{1}{2}$ Monaten endlich 1:100, es war also wieder der Zustand der Individuallinie B , der Ausgangslinie von B_1 , erreicht und wurde dann dauernd weiter beibehalten.

In gleicher Weise — nur in etwas kürzerer Zeit — ging auch die Giftfestigkeit aller anderen Stämme im arsenfreien Medium verloren. Irgendwelche geschlechtlichen Vorgänge waren hierbei — abgesehen von einem noch zu besprechenden Falle — wohl nicht beteiligt, da Konjugationspaare wenigstens nicht gesehen wurden. Im Falle des Stammes B_1 lässt sich Konjugation sogar mit großer Sicherheit ausschließen, da dieser stets bei 31° gezüchtet wurde, eine Temperatur, bei der niemals mehr Konjugation zu beobachten war (und nach den neuen Untersuchungen von Zweibaum überhaupt unmöglich sein soll). Da die Giftfestigkeit also bei rein vegetativer Vermehrung wieder völlig verloren ging, so kann es sich auch bei diesen resistenten Stämmen nicht um eine „Veränderung der genotypischen Grundlage“, eine Mutation, der Ausgangslinie gehandelt haben. Noch klarer wird dies durch zwei weitere Beobachtungen dargetan: Bei einem der fünf anderen „giftfesten“ Paramaecienstämme, der noch eine Konzentration von 3:100 vertrug, während er ursprünglich durch 1:100 abgetötet worden

war, traten nach 1 Monat arsenfreier Kultur (bei Zimmertemperatur von ca. 18°) vereinzelte Konjugationspärchen auf, die von den übrigen Infusorien getrennt weitergezüchtet wurden. Es ergab sich nun, dass die aus den Exkonjuganten hervorgegangenen Kulturen ihre Giftfestigkeit sofort und mit einem Schlage verloren hatten. Schon bei der ersten Prüfung (2 Wochen nach der Konjugation) wurden sie ganz wie die Ausgangslinie bei einer Konzentration von 1:100 wieder abgetötet, während der andere Teil der Infusorien, der keine Konjugation durchgemacht hatte, erst nach weiteren 3 Monaten und dann allmählich ganz entsprechend dem oben beschriebenen Verhalten des Stammes B_1 die Widerstandsfähigkeit gegen arsenige Säure zurückbildete.

Bei einem weiteren, gegen 3,5:100 gefestigten Stamme endlich war während einiger Wochen versucht worden, Konjugation zu erzwingen. Zu diesem Zwecke wurde ein Teil der Kultur einem häufigen und schroffen Wechsel der Ernährungs- und Temperaturbedingungen ausgesetzt. Konjugation wurde nicht erzielt, wohl aber verloren die derartig behandelten Paramaecien bereits nach 2 Monaten ihre Giftfestigkeit, während sie bei dem unter normalen Verhältnissen belassenen Teil des gleichen Stammes erst nach $3\frac{1}{2}$ Monat zurückzugehen anfang.

Diese Beobachtungen zeigen wohl zur Genüge, dass auch bei unseren „giftfesten“ Paramaecienstämmen keine Beeinflussung der „genotypen Grundlage“ erfolgt war, sondern dass es sich bei dieser Resistenz um eine dem Körper (Plasma?) der Infusorien nur äußerlich aufgezwungene Veränderung handelt, die ihre potentiellen Fähigkeiten überhaupt nicht berührte, sie zwar einige Zeit nicht zur Geltung kommen ließ, aber schließlich doch von ihnen überwunden wurde, langsam bei normalen Bedingungen, schneller bei wechselnden, die die betreffenden Individuen zu mannigfachen Reaktionen zwingen, mit einem Schlage durch die im Zusammenhange mit der Konjugation erfolgende tiefgehende Umgestaltung des Paramaeciumkörpers. —

Das Fehlen der Beeinflussung der Erbanlage, wie es sich besonders klar bei der Konjugation zeigte, trennt die von uns behandelten Fälle prinzipiell von Mutationen, sie müssen also als Modifikationen bewertet werden. Da sie sich aber andererseits auch von den gewöhnlichen Modifikationen durch ihre langdauernde — im Falle von B_1 sich während über 600 Teilungsschritten erhaltende¹⁴⁾ — Konstanz bei Zurückversetzung in die ur-

14) B_1 wurde dauernd bei 31° gehalten (s. o.) und teilte sich bei dieser Temperatur ziemlich regelmäßig mindestens dreimal innerhalb 24 Stunden. Da die Änderung in der Giftfestigkeit erst im 8. Monate einsetzte, war die Resistenz also während etwa $3 \times 30 \times 7$ Teilungsschritten konstant geblieben.

sprünglichen Lebensbedingungen scharf unterscheiden, so ist es wohl notwendig, für derartige Erscheinungen einen neuen Begriff zu schaffen. Wir bezeichnen sie daher als „Dauermodifikationen“.

Dauermodifikationen kommen nun sicherlich bei den Protisten nicht selten vor, wenn sie auch bisher nicht als solche erkannt, sondern meist wohl als „Mutationen“ angesehen worden sind.

Bevor wir aber kurz auf derartige Fälle verweisen, muss betont werden, dass es bei den Protisten zweifellos auch echte Mutationen gibt. Ein solcher Fall konnte auch im Verlaufe der hier mitgeteilten Beobachtungen bei *Paramecium* festgestellt und

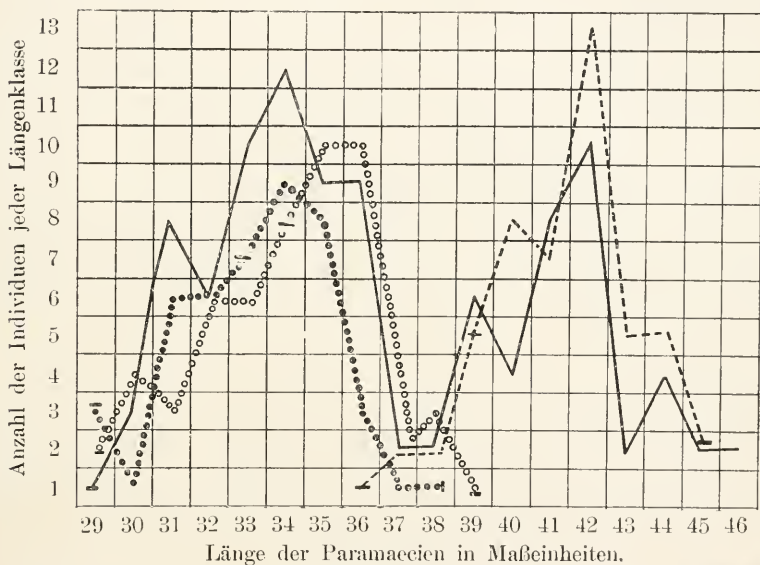


Fig. 1. Variationskurven. — Stammform (α) + Mutante (α_1), ●●●●● Mutante (α_1), ○○○○○ Mutante nach Konjugation, ---- Stammform (α).

genau geprüft werden (in zwei weiteren vielleicht analogen Fällen ließ sich die Prüfung aus äußeren Gründen nicht lückenlos durchführen).

Die zu schildernde Veränderung trat nun nicht bei den Gift-, sondern bei den Wärmeversuchen auf: In einer Kultur der Individuallinie α (s. o.), die ständig bei 31° gehalten und zu anderen Versuchen gebraucht und daher ab und zu kontrolliert wurde, fanden sich nach 9 Wochen (also zu einer Zeit, wo schon längst eine völlige Gewöhnung und Regulation hätte erfolgt sein müssen) neben *Parameccien* von „Normalgröße“ auch auffallend kleinere Individuen. Eine genauere Messung ergab denn auch eine typische zweigipfelige Variationskurve (s. Fig. 1) ganz wie bei dem Vorhandensein zweier verschiedener Rassen innerhalb einer Kultur.

Es wurden nun einzelne der kleinsten wie auch der größten Paramaecien isoliert gezüchtet (und daneben auch die Mischkultur weitergeführt) und nach einiger Zeit gemessen. In beiden Fällen ergaben sich nunmehr eingipfelige Variationskurven, die aber wesentlich voneinander verschieden waren und nur unerheblich transgredierte¹⁵⁾ (s. Fig. 1). Von diesen beiden Variationskurven erwies sich die der größeren Infusorien als mit der (häufig aufgenommenen) der Ausgangslinie a identisch, die der kleineren (a_1) dagegen als völlig neu. Es war die kleinste von mir je gezüchtete Linie von Paramaecium. Und auch in anderer physiologischer Hinsicht zeigte sich bei diesen kleinen Infusorien (a_1) ein Unterschied gegenüber a ; sie konnten nämlich unmittelbar aus 31° (und auch aus 19° und sogar 6°) in 39° versetzt werden, während a wie alle meine übrigen Stämme hierbei regelmäßig einging¹⁶⁾. Und diese abweichenden Eigenschaften behielt a_1 auch nach monatelanger Kultur sowohl bei 31° wie bei tieferen Temperaturen unverändert, und es behielt sie schließlich, was das Wichtigste ist, auch in Kulturen, die nach dem Eintritt einer Konjugation aus Exkonjuganten gezüchtet worden waren. (Am deutlichsten ist dies aus den Größenvariationskurven zu ersehen. Wohl erfolgt nach der Konjugation eine geringe Verschiebung der Kurve, aber nicht in höherem Maße als sie bei Konjugationen innerhalb von Individuallinien überhaupt zu beobachten sind.)

Die neue aus a hervorgegangene Linie a_1 ist damit als echte Mutante erwiesen. —

Nebeneinander kommen also bei den Protisten Modifikationen, Dauermodifikationen und echte Mutationen vor, und äußerlich gleich erscheinende Veränderungen können demgemäß (wenn wir von Selektion aus Populationen sowie Kombination bei Amphimixis absehen) unter Umständen dreierlei Art entstehen. Wie sie in jedem einzelnen Falle zu beurteilen sind, lässt sich mit Sicherheit wie bei den Infusorien allein nach Prüfung ihres weiteren Verhaltens unter verschiedenen Bedingungen und besonders nach Befruchtungsvorgängen entscheiden.

Schwieriger wird die Entscheidung demgemäß natürlich dort, wo keinerlei Befruchtung vorhanden oder wenigstens nachgewiesen ist, also gerade bei den in letzter Zeit noch am meisten untersuchten Formen: den Trypanosomen, Spirochäten, Bakterien u. a. Auch bei ihnen hat man bisher nur zwischen Modifikationen und

15) Unter sich waren sowohl die „kleinen“ wie auch die „großen“ Paramaecien identisch.

16) Diese neuen Eigenschaften von a_1 schließen schon allein den sonst naheliegenden Einwand aus, es könne eine Verunreinigung der Individuallinien Kultur a erfolgt sein, eine Möglichkeit, die sich auch bei der ganzen Versuchsanordnung völlig ausschließen lässt.

Mutationen unterschieden und jede unter gewöhnlichen Lebensbedingungen lange konstant bleibende Veränderung in der Regel ohne weiteres als Mutation bezeichnet. Durch die Feststellung von Dauermodifikationen wird einem derartigen Einteilungsprinzip natürlich der Boden entzogen und eine erneute und vertiefte Prüfung all dieser sogen. Mutationen nötig.

Denn bei der Frage, ob Mutation oder Dauermodifikation, handelt es sich eben nicht um einen Streit um Namen, sondern um prinzipielle sachliche Unterschiede. Und mit der Übertragung der aus den klareren Verhältnissen bei den Infusorien gewonnenen Erkenntnis auf andere, für derartige Unterscheidungen weniger günstige Protistengruppen erreichen wir nicht nur eine einheitliche Anschauung, sondern können auch manche bisher bestehenden theoretischen Schwierigkeiten beseitigen: So sind uns die bei den meisten Bakterien- und Pilz„mutationen“ beschriebenen Rückschläge ohne weiteres verständlich¹⁷⁾, finden sie doch in dem Verluste der Giftfestigkeit unserer Paramaecien ein vollständiges Analogon. Keiner besonderen Erklärung bedarf auch die Rückbildung von Bakterien„mutanten“ nach Darmpassage oder Behandlung mit Karbol, Erscheinungen, denen gegenüber man sich bisher meist durch die Annahme von neuen „Rückmutationen“ zu helfen suchte (während wir bei unseren Infusorien „Rückmutationen“ gerade ausschließen können).

In gleicher Weise verstehen wir von unserem Standpunkte aus, dass bei gift- resp. serumfesten Trypanosomen die Resistenz in zahlreichen Fällen durch viele Tierpassagen erhalten bleibt, in analogen anderen dagegen sowie nach Passage durch das übertragende Insekt völlig verloren geht. Bei dem Verlust der Giftfestigkeit im Überträger brauchen wir sogar nicht einmal die Einwirkung eines Befruchtungsvorganges anzunehmen, da schon allein der radikale Wechsel der Lebensbedingungen — ganz wie bei einem unserer Paramaecienstämme — den Rückschlag zum Durchbruch bringen kann. —

Gar manche für Mutationen angesehene Veränderungen lassen sich also auch bei den Protisten mit unbekannter oder fehlender Sexualität schon jetzt als Dauermodifikationen besser verstehen, und ihre Zahl dürfte wohl bei eingehenderer Untersuchung ständig wachsen. Neben solchen genauer bestimmten Fällen bleiben aber immer noch andere, die wir auch weiter als Mutationen bezeichnen müssen, wenngleich damit zu rechnen ist, dass in diese Kategorie noch geraume Zeit neben echten Mutationen, wie wir sie in der Wärmemutante (α_1) von *Paramaecium* kennen lernten, provisorisch auch Dauermodifikationen eingeweiht sind, die wir

17) D. h. natürlich nur vererbungstheoretisch betrachtet, nicht dagegen in ihrem „Mechanismus“.

aber erst mit fortschreitender Ausbildung unserer Prüfungsmethoden als solche werden nachweisen können (durch Zurückführung in den Ausgangszustand).

Die an den Infusorien gewonnenen Erfahrungen zeigen aber auch schon, in welcher Weise eine derartige Prüfung anscheinend konstanter Veränderungen bei asexuellen Protisten zunächst weiter auszubauen ist: Einmal müssen die veränderten Stämme viel länger bei normalen Bedingungen (d. h. unter Ausschluss der die Veränderung hervorrufenden Einwirkungen) gehalten werden als dies bisher gewöhnlich geschieht; daneben aber sind sie den verschiedensten abnormen, besonders schädigenden Einflüssen unter häufigem schroffem Wechsel auszusetzen. Bei „Mutationen“, die durch chemische Agentien erzeugt werden, wäre besonders auch an Einwirkungen ganz andersartiger Verbindungen zu denken. Stets kommt es eben nur darauf an, die dem Körper nur äußerlich ohne Beeinflussung seiner erblichen Anlagen aufgezwungene Veränderung durch Auslösung tiefgreifender Allgemeinreaktionen der Organismen wieder abzuschütteln. — Diese Hinweise mögen hier genügen, eine eingehendere Besprechung der Literatur muss ebenso wie die genauere Darstellung der geschilderten Versuche und Beobachtungen der ausführlichen Arbeit vorbehalten bleiben.

München, Zoologisches Institut der Universität.

Contributo alla conoscenza delle Fillosserine ed in particolare della Fillossera della vite.

Prof. Dott. B. Grassi e suoi allievi DD^{ri} A. Foà, R. Grandori, B. Bonfigli, M. Topi.

p. 456 (con 20 Tavole). Riassunto p. LXXXV. Roma 1912. Ministero d'Agricoltura.

Dieser Beitrag ist die Frucht einer ca. 6jährigen Arbeit des Prof. B. Grassi und der Dr. Anna Foà; die anderen Mitarbeiter (alle Schüler von Prof. Grassi) haben eine kürzere Zeit darauf verwendet.

Die Abhandlung ist in zwei Teile geteilt: der erste behandelt alle in Italien vorkommenden Phylloxerinae mit Ausnahme der Reblaus, der zweite bezieht sich fast ausschließlich auf die letztere.

Die Autoren unterscheiden in Italien außer der Reblaus 12 Phylloxera-Arten, von denen einige in unserem Lande bis jetzt noch nicht beschrieben, andere vielleicht mit schon bekannten Arten verwechselt wurden, andere endlich, wie z. B. die auf den Wurzeln der Eichen wachsende *Foaiella Danesii*, gewiss neu sind. Auf Grund eines durch gründliche anatomische Hinweise unterstützten sehr eingehenden Studiums der äußeren Merkmale stellen die Autoren

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: [Biologisches Zentralblatt](#)

Jahr/Year: 1913

Band/Volume: [33](#)

Autor(en)/Author(s): Jollos Victor

Artikel/Article: [Experimentelle Untersuchungen an Infusorien. 222-236](#)