

AUS DEM PFLANZENPHYSIOLOGISCHEN LABORATORIUM
DER UNIVERSITÄT TARTU

**UNTERSUCHUNGEN
ÜBER DIE PLASMAKOAGULATION VON
*PARAMAECIUM CAUDATUM***

VON

JAAN PORT

DORPAT 1928

Im Protoplasma, welches als ein System von kolloiden Phasen angesehen wird, kann man unter gewissen Bedingungen einige Zustandsänderungen, wie Verdichtung (Erstarrung, Koagulation) oder Verflüssigung, wahrnehmen.

Die Verdichtung des Plasmas kann man durch verschiedene mechanische Eingriffe, durch Hitze oder durch die Wirkung von Salzen, Säuren und Basen, ebenso durch verschiedene Anelektrolyte hervorrufen. Kommt sie in bestimmten Teilen des Plasmas in der Zelle vorübergehend zustande und verschwindet sie wieder nach dem Wegfall der erwähnten Agentien, dann bleibt das Plasma am Leben, und man spricht in diesem Falle von einer reversiblen Plasmakoagulation. Ist die Koagulation des Plasmas aber so weit vorgeschritten, dass das Koagulum nicht mehr verflüssigt werden kann, dann kommt die Erholung des Plasmas nicht mehr zustande, und das Plasma stirbt ab. In diesem Falle ist die Plasmakoagulation irreversibel.

Diese Koagulationserscheinungen sind, was das Pflanzenplasma anbetrifft, schon lange bekannt und mehrfach untersucht worden. Es soll hier nur auf die eingehenden Untersuchungen mehrerer Forscher hingewiesen werden. So hat Lepeschkin (1910, 1911, 1912, 1923) die Plasmakoagulationserscheinungen infolge mechanischer Eingriffe, die Hitze-koagulation bei konstant gehaltenen Temperaturen und die Wirkung der H⁺- und OH⁻-Ionen auf die Koagulation bei verschiedenen Pflanzenzellen, insbesondere bei *Spirogyra*, untersucht.

Heilbronn (1914) hat die Viskosität des Plasmas in der Wurzelspitze von *Vicia faba* und die Wirkung der Temperatur auf die Viskosität festgestellt; Cholodny (1918) — die reversible und irreversible Koagulation, die durch Neutralsalze in den Wurzelhaaren von *Trianea bogotensis* hervorgerufen werden, beobachtet. Von Kaho (1921, 1924, 1926) ist die Hitze-koagulation und die Wirkung der Neutralsalze und Säuren auf diese Erscheinung wiederholt an *Tradescantia zebrina*, *Rhoea discolor* und Rotkohl untersucht worden.

Untersuchungen über die Plasmakoagulation der tierischen Zellen sind in viel geringerem Umfange durchgeführt worden. Es seien hier erwähnt die Hitzekoagulationsbestimmungen bei konst. Temperaturen an Blutserum und Froschmuskeln von Buglia (1909), diejenigen an Cumingia-Eiern von Heilbrunn (1924) und die Untersuchungen von Spek (1921) über die Plasmaverdichtungen, die durch die Wirkung der verschiedenen Neutralsalze in den Zellen von *Actinosphaerium* Eichhorni hervorgerufen werden.

Welche Rolle die Neutralsalze, Säuren und Basen bei der Hitzekoagulation des tierischen Plasmas spielen, sowie auf welche Weise die Koagulation des Tierplasmas bei verschiedenen physikalischen und chemischen Agentien im Detail verläuft, habe ich aus den Literaturangaben nicht ersehen können. Darum habe ich im Februar 1926, dem Rate des Herrn Professor Dr. K a h o folgend, meine Untersuchungen über die Plasmakoagulation bei *Paramaecium caudatum* begonnen, um einiges zu der tierischen Plasmaforschung beizutragen und, wenn möglich, einige Parallelen zwischen den Koagulationerscheinungen bei Pflanzen- und Tierplasma zu ziehen.

Es sei mir gestattet, dem Direktor des Pflanzenphysiol. Instituts Herrn Professor Dr. H. K a h o, der viel Interesse für meine Untersuchungen gezeigt hat und mir allseitig entgegengekommen ist, an dieser Stelle meinen besten Dank auszusprechen.

Die Methode¹⁾.

Die Untersuchungen wurden an einer reinen Rasse von *Paramaecium caudatum* Ehrbg., die aus einem einzelnen Tier gezüchtet wurde, durchgeführt. Da die Bemühungen verschiedener Fachmänner (Küster, Tsujitani, Ogata etc.) sie auf elektiven Substraten zu züchten bisher misslungen sind, habe ich bei meinen Untersuchungen die Paramaecien in verschiedenen Bakterienkulturen nach verschiedenen Methoden gezüchtet. Am besten gelangen die Kohlrübenkulturen (nach der Methode J. Spek). Die Kohlrübenstückchen (*Brassica napus esculenta* D. C.) wurden ca 24 Stunden lang in Leitungswasser bei 18—20°C liegen gelassen und die so gewonnene Kohlehydratlösung

1) Siehe meine vorläufigen Mitteilungen in „Protoplasma“ Bd. I, S. 565 und Bd. II, S. 401. 1927.

in reine Glasgefässe hineinfltriert (die Wassertiefe betrug in den Gefässen ca 2 cm). Die Gefässe blieben 24 Stunden lang offen, wobei die Bakterien aus der Luft sich dahin einsetzen konnten; dann wurden sie mit Glasscheiben bedeckt. Nach 2--3 Tagen, nachdem die Bakterien sich stark vermehrt hatten, wurden die Bakterienkulturen mit der *Paramaecium caudatum*-Reinkultur infiziert. Und nach 3--5 Tagen konnte man in diesen Kulturen eine sehr grosse Menge von *P. caud.* finden (in jedem Tröpfchen ca 20--40 Individuen).

Zweitens benutzte ich verwesende Fischeierkulturen (Eiweisskulturen). Es wurden aus dem Fischzuchtshause in Verwesung begriffene Fischeier geholt und einige Tage in Leitungswasser aufbewahrt. Auch in dieser Eiweisslösung entwickelten sich beträchtliche Mengen von Bakterien, wobei die *Paramaecien* sich nach der Einführung verhältnismässig gut vermehrten.

Drittens wurden gemischte Kulturen aus Kohlrübenwasser + Fischeierwasser (Kohlenhydrat + Eiweiss) angewandt. Diese Kulturen erhielten sich sogar mehrere Wochen lang sehr gut.

Viertens wurden Kulturlösungen aus Pepton, Glukose und anorganischen Salzen in destilliertem Wasser verwendet. In diesen Lösungen entwickelten sich die Bakterien gut, die *Paramaecien* aber sehr schwach.

Die Versuche wurden hauptsächlich nur mit 1 (Kohlrübenwasserkulturen) und 3 (Mischkultur aus Kohlehydr. + Eiweiss) durchgeführt. Um die individuellen Besonderheiten der Tiere möglichst auszugleichen, wurden sie unter gleichen Bedingungen gezüchtet und in jeder Serie gleich alte Kulturen verwendet; ebenso wurde dafür gesorgt, dass die Versuchstiere gut ernährt und kräftig waren. Endlich wurde niemals mit einzelnen Tieren gerechnet, sondern die Mittelwerte aus den Versuchsserien berechnet und nur aus diesen Mittelwerten die Schlussfolgerungen gezogen.

Die Hitzekoagulationsbestimmungen sind folgendermassen durchgeführt worden: aus den verschieden vorbereiteten *Paramaecienkulturen* wurde eine konstante Menge — 95 mm³ — in ein feines Glasrohr (Durchm. 3 mm) aufgenommen und dieses von unten mit einem Gummipfröpfchen verschlossen. Jede Versuchsprobe enthielt 20--40 *Paramaecien*. Dieses Experimentierrohr habe ich jedesmal in ein grösseres (1,5 Liter) parallelwandiges Glasgefäss,

in dem die Temperatur mittels eines Thermoregulators auf dem Mikrobrenner konstant gehalten wurde (Temperaturschwankungen bis $0,1^{\circ}\text{C}$), hineingestellt und die Koagulationszeiten des Paramaecienplasmas bei verschiedenen Temperaturen mittels eines Horizontalmikroskops bestimmt. Das Wasser im Gefäße wurde mittels eines durch einen Elektromotor in Bewegung gesetzten Rührwerkes stetig durchgemischt. Die Berechnung der mittleren Koagulationszeiten wurde folgendermassen ausgeführt: man bestimmte die Zeiten, in denen die ersten (A) und die letzten (B) Paramaecien in dem Experimentierrohr unbeweglich (Ende der zweiten Koagulationsstufe: siehe weiter!) auf den Boden fielen; dann wurde aus diesen Daten der Mittelwert $\frac{A+B}{2}$ berechnet. Die

Versuche wurden bei jeder Temperatur mindestens dreimal wiederholt und aus den jedesmaligen Mittelwerten (M) diejenigen für jede andere Temperatur gewonnen (MM). So z. B. die Plasmakoagulationsversuche mit Paramaecien in normaler Kulturlösung bei 40°C :

| A | B | (M) |
|-----------|------|--------|
| 210" | 264" | 237" |
| 220" | 255" | 237,5" |
| 190" | 235" | 212,5" |
| MM 229.0" | | |

Weiter ist experimentell festgestellt worden, dass das Erwärmen der Kulturlösungen im Experimentierrohr von $18-20^{\circ}\text{C}$ auf $38-44^{\circ}\text{C}$ ca 5 Sek. erfordert. Diese Zahl wurde dann von MM abgezogen und die so erhaltenen Daten in die Tabelle eingetragen. Im erwähnten Falle erhält man $\text{MM } 229''-5'' = 224''$.

Die Plasmakoagulationsbestimmungen bei konst. Temperaturen führte ich hauptsächlich nur zwischen $38-44^{\circ}\text{C}$ aus. Bei Temperaturen niedriger als 38°C erfolgt die Koagulation sehr langsam (so bei 36°C in ca 60—70 Min.), und man kann bei dreimaliger Wiederholung eines jeden Versuches mit einer Versuchsserie kaum in einem Tage fertig werden. Bei Temperaturen über 44°C aber verläuft die Plasmakoagulation zu schnell, und man kann sie nicht mehr genau verfolgen.

Die verschiedenen Beobachtungen über die Plasmakoagulation bei höheren Temperaturen, ebenso über die Pulsationsveränderungen der Vakuolen, stellte ich unter dem Mikroskope auf

einem von der Firma C. Reichert gelieferten Wärmetische an. Die Angaben des Wärmetischthermometers wurden, wenn sie mit der Zimmertemperatur nicht übereinstimmten, folgendermassen korrigiert: bei 15—25° C — ohne Korrektur, bei 25—35° C — um 0,5°, bei 35—40 — um 0,5—1°, bei 40—45° — um 1—1,5° erniedrigt. Diese Korrektur macht freilich auf absolute Genauigkeit keinen Anspruch, nähert jedoch die beobachteten Zeiten den wirklichen an. Die Beobachtungen bei niedrigeren Temperaturen wurden in verschiedenen Räumen ausgeführt, wo die Temperaturen mit den Wärmetischangaben übereinstimmten.

Die Hitzekoagulationsveränderungen des Plasmas habe ich ultramikroskopisch unter einem anderen, mit Leitzschem Spiegelkondensator versehenen Mikroskope bei Vergrösserungen bis Zeiss K. 20×58 kontrolliert.

Die Versuche.

Als ich mich mit den verschiedenen Züchtungsmethoden der Paramaecien beschäftigte, bemerkte ich, dass die am Anfang neutralen Kulturlösungen nach einigen Tagen alkalische Reaktion zeigten. Die Reaktionsveränderung der Kulturlösungen muss man der Tätigkeit der Bakterien zuschreiben. In meinen Paramaecienkulturen betrug die H-Ionenkonzentration nach 3—4 Tagen fast immer pH 7.7 und blieb dann mehrere Tage unverändert. Nur in alten Kulturlösungen konnte ich manchmal eine Verminderung der pH-Werte feststellen; niemals aber stiegen die pH-Werte über 7.7. Durch Hinzufügen von Säuren und Basen bewirkte ich eine Veränderung der H-Ionenkonzentration. Dabei zeigte es sich, dass die von mir gezüchtete Paramaeciumrasse nur bei pH 8.4—6.8 leben kann, am besten aber bei pH 7.7 (optimum). Mit Hilfe des Zentrifugierens und wiederholten Waschens der Paramaecienkulturen konnte ich die Paramaecien in reines (destilliertes) Wasser überführen (pH 7.2—7.1). Nach einigen Tagen zeigte aber auch da die H-Ionenkonz. pH 7.3—7.5 (mittels Zentrifugierens kann man die Paramaecienkulturen von den Bakterien nicht befreien!). Ebenso konnte ich immer nach der Erniedrigung der OH-Ionenkonz. in Kulturlösung unter pH 7.7 durch Hinzufügen von Säuren schon nach einigen Stunden wieder eine neue Steigerung der pH-Werte bewirken. Es erhob sich nun die Frage, wie das Paramaecienplasma bei den verschiedenen pH-Werten bei höheren Temperaturen zu koagulieren anfängt,

und ob die OH'- u. H-Ionenkonzentration der Umgebung (des Mediums) auf die Ionisation und auf die Koagulation des Paramaecienplasmas eine Wirkung hat.

Die Resultate der Untersuchungen, die ich in dieser Richtung durchgeführt habe, sind in Tabelle 1 zusammengefasst.

Tabelle 1.
Die Hitzekoagulationszeiten in Sekunden.

| T° C | Reines Wasser pH 7.2 | Kultur- lösung pH 7.7 | Neutral. mit HCl | | | Neutr. mit H ₂ SO ₄ | | Neutr. mit Zitronensäure | | | + KOH | | +NH ₄ OH |
|---------|----------------------------|-----------------------------|---------------------|-----|-----|--|------|-----------------------------|-----|-----|-------|-----|---------------------|
| | | | pH | pH | pH | pH | pH | pH | pH | pH | pH | pH | pH |
| | | | 7.4 | 7.0 | 6.8 | 7.4 | 7.0 | 7.4 | 7.0 | 6.8 | 8.0 | 8.4 | 8.0 |
| 44° | 9 | 8.5 | 8.8 | 9 | 9.3 | 10 | 11.5 | 11 | 12 | 10 | 8 | 7.5 | 9 |
| 42° | 50 | 33 | 105 | 120 | 126 | 40 | 53 | 58 | 62 | 38 | 26 | 22 | 37 |
| 40° | 200 | 253 | 330 | 310 | 220 | 200 | 192 | 168 | 140 | 137 | 165 | 143 | 185 |
| 38° | 660 | 1240 | 1050 | 920 | 900 | 428 | 380 | 625 | 325 | 280 | 900 | 880 | 910 |

Die in der Tabelle aufgeführten Zahlen repräsentieren die Mittelwerte in Sekunden, die aus den 3—5 maligen Bestimmungen berechnet sind. Vor den Versuchen haben die Paramaecien 5—7 Stunden in den betreffenden Lösungen bei den angegebenen pH-Werten gelebt. Vor dem Beginn der Versuche sind die pH-Werte aber nochmals auf die angegebenen Zahlen reguliert worden. Die pH-Bestimmungen wurden nach der Sørensen'schen Indikatorenmethode mittels des von E. Leitz konstruierten Komparators durchgeführt.

Aus der Tabelle 1 können wir ersehen, a) dass die Koagulationszeiten des Paramaecienplasmas von der OH'- u. H-Ionenkonzentration der Umgebung abhängen, d. h. dass sie sich mit der Veränderung der pH-Werte der Lösung auch verändern, und b) dass diese Zeiten nicht nur von der OH'- und H-Ionenkonzentration, sondern auch von den zur Veränderung der pH verwendeten Säuren und Basen abhängig sind.

Was die Bedeutung der OH'-Ionenkonzentration der Umgebung für die Hitzekoagulation des Plasmas anbetrifft, so sehen wir aus den Angaben der Tabelle 1, dass bei den Temperaturen 38 u. 40° C die Koagulationszeiten mit der Verminderung der pH-Werte von 7.7 bis auf 6.8 — kürzer werden, dagegen bei 42 u. 44° sich verlängern (eine Abweichung findet nur statt bei

pH 6.8 — Neutralisation mit Zitronensäure). Daraus kann man schliessen, dass das Paramaecienplasma mit dem Sinken der OH'-Ionenkonzentration der Umgebung bei höheren Temperaturen (44 u. 42° C) resistenter, bei niederen Temperaturen (unterhalb 40—38°) aber empfindlicher gegen die Hitze wird, als das Plasma der in normaler Kulturlösung bei pH 7.7 sich befindenden Tiere.

Diese Verhältnisse kommen noch deutlicher zum Ausdruck, wenn wir die Angaben der Tabelle in Kurvenform wiedergeben.

Aus Fig. 1 ersehen wir, wie bei der Neutralisation der Kulturlösung mit HCl die Hitzeresistenz des Paramaecienplasmas mit dem Sinken der OH'-Ionenkonzentration bei Temperaturen

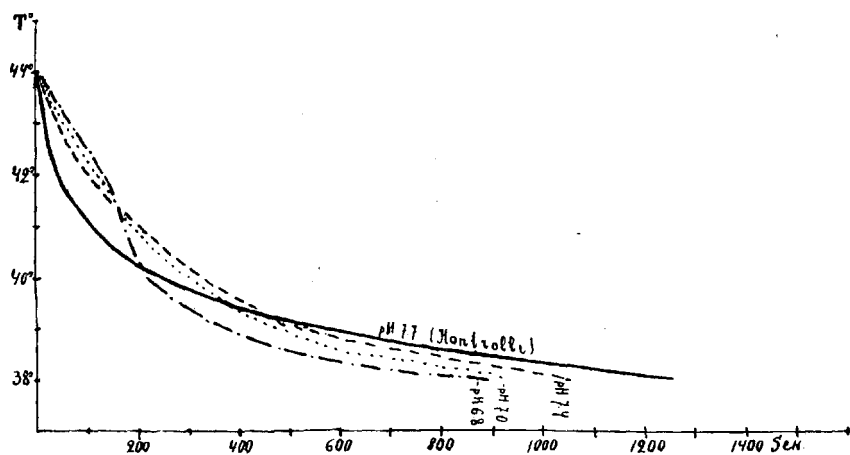


Fig. 1. Neutralisation der Kulturlösung mit HCl.

von 39 u. 40° C bis 44° steigt, bei Temperaturen von unter 40 u. 39° aber fällt. Interessant ist es hier, dass die pH 6.8-Kurve an beiden Seiten von der Kontrollkurve am meisten abweicht.

Die Kurven der Fig. 2 zeigen uns, wie die Koagulation des Plasmas bei der Neutralisation und Versäuerung der Lösung mit Zitronensäure zustande kommt: bei Temperaturen von unter 41° wird die Geschwindigkeit der Hitzekoagulation hier mit dem Sinken der pH — ähnlich wie bei der Neutralisation mit HCl — beschleunigt, bei solchen über 41° aber — viel weniger als bei HCl — verlangsamt.

Aus Fig. 3 ist zu ersehen, wie das Paramaecienplasma in der mit verschiedenen Säuren neutralisierten Lösung bei pH 7.0 erstarrt. Hier ist zu bemerken, dass das Kreuzen der Kontrollkurve an verschiedenen Punkten geschieht (HCl — bei ca 39°,

H_2SO_4 u. Zitronensäure — bei ca 41°) und dass bei pH 7.0 die Hitze-koagulation am langsamsten in der mit HCl und am schnellsten in der mit Zitronensäure neutralisierten Lösung zustande kommt.

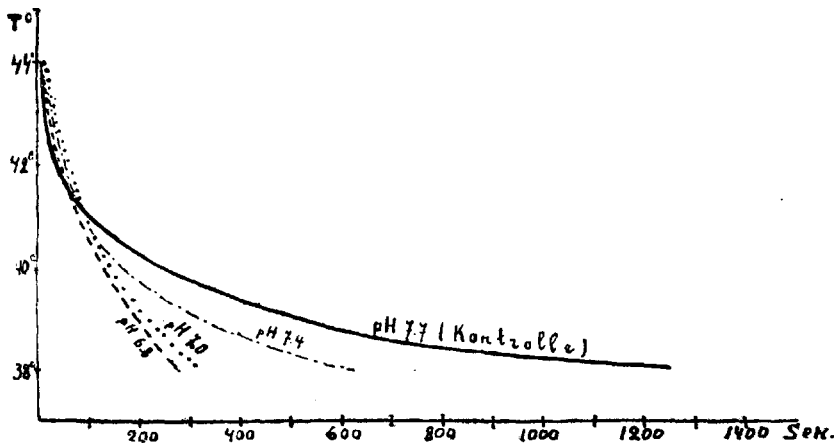


Fig. 2. Neutralisation der Kulturlösung mit Zitronensäure.

Wir ersehen also aus den Fig. 1, 2 u. 3, dass die Kurven, die die Plasmakoagulation bei pH 6.8, 7.0 u. 7.4 repräsentieren, der

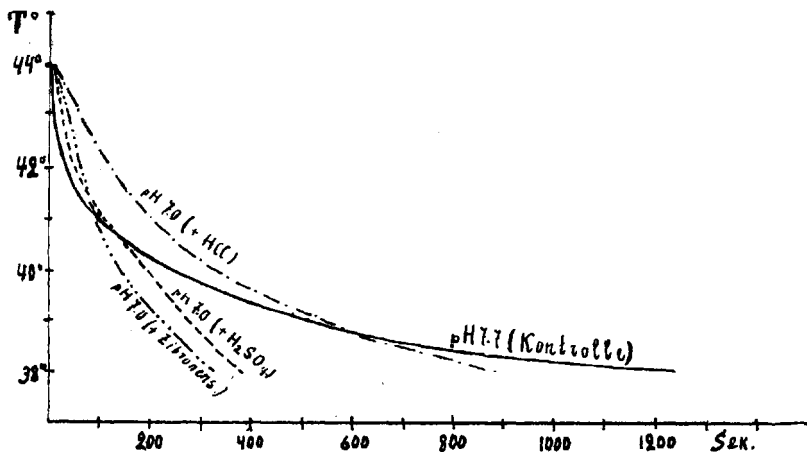


Fig. 3. Koagulation des Paramoecienplasmas bei pH 7.0.

Kontrollkurve (pH 7.7) nicht parallel laufen, sondern sie kreuzen, und ausserdem noch in verschiedener Entfernung von ihr verlaufen. Die Kurven überschreiten (kreuzen) die Kontrollkurve nicht an einem Punkte (= bei einer bestimmten Tem-

peratur); letztere hängt ab von der OH' -Ionenkonzentration und von den Säureanionen, resp. von der Säure, mit der die Neutralisation der Lösung vorgenommen wird (Fig. 3). In welcher Entfernung von der Kontrollkurve die anderen Kurven verlaufen, hängt hauptsächlich von der pH der Lösung (Fig. 1 u. 2), aber auch von den Säureanionen ab.

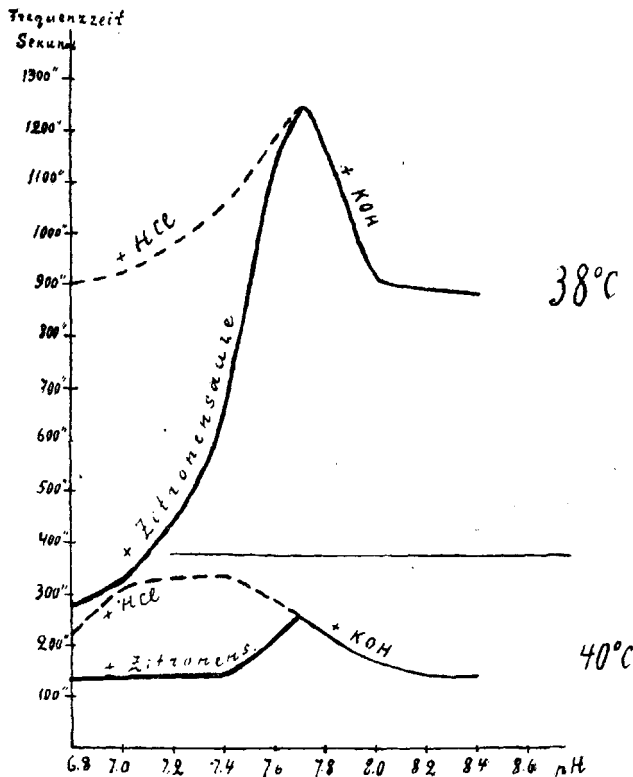


Fig. 4. Die Hitze koagulation des Paramaecienplasmas bei den verschiedenen pH-Werten.

So haben wir gefunden, dass die Hitze koagulation des Plasmas von der OH' -Ionenkonzentration und von den bei der Neutralisation der Lösung verwendeten Säuren stark beeinflusst wird.

Aus der zweiten Hälfte der Tabelle 1 können wir ersehen, wie die Koagulation des Paramaecienplasmas bei den höheren pH-Werten 8.0 u. 8.4 zustande kommt, d. h. wie das Steigen der OH' -Ionenkonzentration der Kulturlösung auf die Plasma koagulation wirkt: a) bei der Steigerung der OH' -Ionenkonzentration

tration der Lösung durch Hinzufügung von KOH werden die Koagulationszeiten des Plasmas bei allen Temperaturen kürzer, als diejenigen in der Kulturlösung bei pH 7.7; b) diese Geschwindigkeit wächst mit dem Steigen der OH⁻-Ionenkonzentration der Lösung und ist bei $\text{pH } 7.7 < 8.0 < 8.4$; c) mit NH₄OH, welches bekanntlich — besonders bei höheren Temperaturen — sehr flüchtig ist, wurde nur eine Reihe von Versuchen bei pH 8.0 durchgeführt. (Die höheren Konzentrationen sind noch weniger beständig!) Die Koagulationszeiten des Plasmas in NH₄OH-Lösung sind denjenigen der KOH-L. bei pH 8.0 sehr nahe, unterscheiden sich aber von letzteren besonders bei 42° und 44° dadurch, dass in der NH₄OH-Lösung das Plasma etwas langsamer erstarrt als in der KOH- und der Kulturlösung.

Wie das Paramaecienplasma bei den Temperaturen 38° und 40° in Lösungen mit verschiedenen pH-Werten koaguliert, zeigt uns Fig. 4. Aus ihr ersehen wir, dass das Paramaecienplasma bei 38° C in der Lösung mit pH 7.7 am resistentersten gegen die Hitze ist. Mit der Erhöhung und Verminderung der OH⁻-Ionenkonzentration von diesem Punkte aus wird die Koagulation des Plasmas beschleunigt. Bei der Neutralisation mit HCl ist diese Beschleunigung der Koagulation bei 38° viel geringer als bei der Neutralisation mit Zitronensäure. (Die H₂SO₄-Neutralisation nimmt eine mittlere Stellung ein!). Daraus können wir schliessen, dass die Hitzeresistenz des Paramaecienplasmas bei 38° bei der Neutralisation mit verschiedenen Säuren nach der Valenz des Säureanions (Cl⁻ < SO₄⁻² < Zitronens.) herabgesetzt wird.

Bei 40° ist der Gang der Koagulation etwas anders. In mit Zitronensäure neutralisierter Lösung ebenso wie in mit KOH (NH₄OH) alkalisch gemachter Lösung erstarrt das Plasma etwas geschwinder als bei pH 7.7 in der Kulturlösung. In der mit HCl neutralisierten Lösung bei pH 7.4 u. 7.0 ist das Plasma dagegen resistenter gegen die Hitze als in der Kulturlösung.

Bei noch höheren Temperaturen ist, wie man aus der Tabelle 1 ersehen kann, die Hitzeresistenz des Plasmas nicht mehr bei pH 7.7, sondern bei niedrigeren pH-Werten am grössten.

Da das Paramaecienplasma bei 40°, 38° und wohl auch bei niedrigeren Temperaturen bei pH 7.7 seine maximale Resistenz gegen die Hitze erhält und damit die pH 7.7 der Umgebung (besonders bei niedrigeren Temperaturen) eine grosse Bedeutung für das

Leben der Tierzellen hat, so muss man diese Erscheinung vom Gesichtspunkte der Plasmakolloide zu erklären versuchen. Wenn die Ionisation der Plasmakolloide von der H⁺- u. OH⁻-Ionenkonzentration des Aussenmediums (= Kulturlösung) abhängig ist, dann muss mehr ionisiertes Plasma resistenter gegen die Hitze sein, schwerer erstarren als das wenig ionisierte (vgl. Eiweissionisation — Pauli) und am leichtesten in dem isoelektrischen Punkte zur Koagulation gebracht werden können. Wo der isoelektrische Punkt des Parmaecienplasmas steht, ist leider nicht bekannt (vermutlich zwischen pH 5—6?). Somit muss die Hitze-resistenz des Parmaecienplasmas mit dem Steigen der pH-Werte über den isoelektrischen Punkt bis zu einer bestimmten Grenze ebenfalls wachsen. Die Steigerung der verschiedenen kolloidchemischen Eigenschaften, wie Viskosität, Quellung, osm. Druck etc., geschieht, wie J. L o e b (1919—1921) an verschiedenen organischen Kolloidlösungen gezeigt hat, vom isoelektrischen Punkte an mit der Veränderung der pH-Werte nach den eingipfeligen Kurven. Die obenerwähnten kolloiden Eigenschaften der organischen Lösungen haben an beiden Seiten des isoelektrischen Punktes ihre Maxima, von welchen an sie mit dem Steigen der OH⁻- oder H⁺-Ionenkonzentration wieder zu fallen beginnen. Dass das Plasma der verschiedenen Organismen den bestimmten H⁺- oder OH⁻-Ionenkonzentrationen angepasst ist, haben verschiedene Autoren in letzter Zeit gezeigt. Und da die Parmaecienrasse in meinen Kulturen nur zwischen pH 6.8—8.5 leben konnte und das physiologische Optimum für sie bei pH 7.7 lag, so muss dieses Optimum mit den kolloidchemischen Eigenschaften des Plasmas in Zusammenhang stehen. — Wir haben ja nur gezeigt, dass das Parmaecienplasma bei pH 7.7 gegen die Hitze am resistantesten ist. Auf die Frage, ob es bei dieser OH⁻-Ionenkonzentration auch gegen die anderen chemischen und physikalischen Agentien ebenso widerstandsfähig ist, und ob bei dieser Ionisationstufe die physiologischen Prozesse im Plasma am zweckmässigsten verlaufen, kann man nur auf Grund spezieller Untersuchungen eine Antwort geben. — Ausserdem ist hier noch die Frage zu beantworten, warum die physiologischen Optima bei den verschiedenen Organismen so verschiedenen pH-Werten angepasst sind.

Wenn man zur alkalischen Kulturlösung (pH 7.7) zur Neutralisation etwas Säure hinzufügt, dann wird dadurch nicht nur die OH⁻-Ionenkonzentration der Lösung herabgesetzt, sondern es

entstehen dabei noch Salze, deren Ionen ihrerseits auf das Plasma wirken. Und man muss immer beachten, dass bei der Neutralisation mit verschiedenen Säuren die Säureanionen häufig eine bedeutende Wirkung auf das Plasma ausüben, andererseits aber bei Anwesenheit von OH' - oder H' -Ionen die Wirkung der Salzionen sehr verschieden sein kann, was gewöhnlich nur mit den Worten „giftig“ und „ungiftig“ ausgedrückt wird; ausserdem muss man noch ins Auge fassen, dass diese Wirkung der verschiedenen Ionen auch von der Natur der Organismen und Zellen (= vom Abbau des Plasmas) abhängt. Auch können die physikalischen Bedingungen, wie Temperatur, Licht etc., dabei einen grossen Einfluss haben und die Sache noch mehr komplizieren. Alles das berücksichtigend, ist es sehr schwer zu erklären, warum das Paramaecienplasma in den mit verschiedenen Säuren neutralisierten Lösungen (pH 7.4, 7.0 u. 6.8) bei Temperaturen über $39\text{--}41^\circ$ langsamer erstarrt, als in der Kulturlösung bei pH 7.7, während bei niedrigeren Temperaturen im Gegenteil die Koagulation durch Herabsetzung der OH' -Ionenkonzentration gefördert wird.

Aus Tabelle 1 kann man noch ersehen, dass das Paramaecienplasma auch in reinem Wasser (pH 7.2) im Vergleich mit demjenigen in Kulturlösung bei pH 7.7 bei Temperaturen unter 40°C schneller koaguliert, bei solchen über 40° aber resistenter gegen die Hitze ist. Wir dürfen wohl annehmen, dass das Zentrifugieren auf die Paramaecienzellen eine mechanische Wirkung ausgeübt haben könnte, weshalb das Plasma auch schneller koagulieren kann (mechanische + Hitzekoagulation!), ähnlich wie bei denjenigen Beobachtungen, welche von Lepeschkin (1923) an Spirogyra-Fäden gemacht wurden, wo das Plasma der mehrmals gebogenen Spirogyra-Zellen bei höheren Temperaturen auch viel schneller zur Koagulation gebracht wurde, als das der ungebogenen Zellen. Aus diesem Grunde müsste die Hitzekoagulation des Plasmas der zentrifugierten Paramaecienzellen, abgesehen von der Ionisation, auch über 40°C schneller zustande kommen, als die der unzentrifugierten, was in der Tat aber nicht der Fall ist. Für die letzterwähnte Erscheinung ist es ebenfalls schwer eine befriedigende Erklärung zu finden.

Die Wirkung der Neutralsalze auf die Hitzekoagulation.

Bei der Koagulation hydrophiler wie hydrophober kolloider Lösungen spielen die Elektrolyte eine sehr grosse Rolle. Es ist gezeigt worden, dass z. B. wenn man die Albumine (Lepeschkin) nach langdauernder Dialyse von den Elektrolyten befreit hat, auch beim Kochen der kolloiden Lösungen keine Koagulation stattfindet. Andererseits kann man aber verschiedene organische Kolloidlösungen mit Hilfe von Neutralsalzen leicht zur Koagulation bringen (Porges — Neubauer, Pauli — Handowsky etc.).

Wenn man die Wirkung der Neutralsalze auf die Hitzekoagulation des Paramaecienplasmas untersuchen will, dann muss man die Salze nur in hypotonischen Konzentrationen verwenden, denn in hypertonischen und sogar in isotonischen (bei Par. caud. 0,075—0,08 n.) Salzlösungen gehen die Paramaecien sehr bald zugrunde. Aus den Nachprüfungen ergab sich, dass die P. mehrere Tage, in manchen Fällen sogar einige Wochen lang, in 0,05 n. Neutralsalzlösungen leben konnten. Darum führte ich die folgenden Versuche mit solchen 0,05 norm. Salzlösungen aus.

Um die Salzwirkung auf die Koagulation des Paramaecienplasmas festzustellen, war es nötig, die in Leitungswasser gezüchteten Paramaecien in destilliertes Wasser überzuführen und sie dann mit den betreffenden reinen Salzlösungen in bestimmten Konzentrationen zu mischen. Wie die Koagulationszeiten des Paramaecienplasmas davon abhängen, ob es sich um Kulturlösung bei pH 7.7 oder dreimal wiederholt mit destilliertem Wasser zentrifugierte und gewaschene reine Salzlösung bei pH 7.2 handelt, wurde schon früher bei der Analyse der Tabelle 1 auseinandergesetzt.

In Tabelle 2 sind einige Beispiele angeführt, wie die

Tabelle 2.

| Die Salze | | pH | 44° C | 42° | 40° | 38° |
|-----------------------------------|-------------------------|------|-------|-----|------|-------|
| KCl | a) Kulturfl. + Salz | <7.7 | 9.9" | 51" | 267" | 955" |
| | b) reines Wasser + Salz | <7.2 | 12.6" | 82" | 271" | 980" |
| NaNO ₃ | a) K-fl. + S. | 7.7 | 13.7" | 48" | 202" | 895" |
| | b) r. W. + S. | 7.2 | 14.0" | 88" | 267" | 1035" |
| Ca(NO ₃) ₂ | a) K-fl. + S. | 7.6 | 13.5" | 55" | 247" | 1082" |
| | b) r. W. + S. | 7.1 | 13.8" | 61" | 209" | 876" |

Plasmakoagulation bei 0,05 n. Salzkonzentration a) in den Kulturlösungen bei $\text{pH} < 7.7$ und b) in den reinen Salzlösungen (nach dreimaligem Zentrifugieren und Waschen) bei $\text{pH} 7.2-7.1$ zustande kommt.

Die Angaben der Tabelle 2 zeigen uns, dass die Koagulationszeiten des Plasmas bei 0,05 n. Salzkonzentration in der Kulturflüssigkeit und in reinem Wasser verschieden sind. Inwiefern hier aber die Unterschiede von den verschiedenen pH-Werten abhängen und wieviel der Nebenwirkung von Seiten der in der Kulturlösung vorhandenen Verunreinigungen der verschiedenen organischen Verbindungen, den Ca-Salzen des Leitungswassers etc. zuzuschreiben ist, habe ich nicht näher untersucht. Jedenfalls kann man durch das Zentrifugieren und Waschen die Paramaecien nicht ganz von den Beimischungen der Kulturflüssigkeit und den Bakterien befreien; ebenso bleiben in der Nährvakuolenflüssigkeit die aus der Kulturlösung aufgenommenen Salze zurück, deren Wirkung auf die Permeabilität des Plasmas für die in äusserer Lösung sich befindenden Salze unmöglich zu beseitigen ist. Alles das berücksichtigend, und ausserdem noch im Auge behaltend, dass das Paramaecienplasma beim Zentrifugieren mechanisch beschädigt werden kann und dass die Paramaecien in reinem Wasser ebenso wie in reinen Salzlösungen bei $\text{pH} 7.1-7.2$ nicht als ganz normal anzusehen sind, beschloss ich meine Untersuchungen in Kulturlösungen, zu denen die betreffenden Salz mengen hinzugefügt wurden, durchzuführen.

Welche Wirkung die Neutralsalze in 0,05 norm. Konzentration in Kulturlösung auf die Hitze koagulation des Paramaecienplasmas ausüben, das kann man auf der Tabelle 3 verfolgen. Es sei nur bemerkt, dass auf dieser Tabelle die Zahlen, die die Koagulations-

Tabelle 3.

| T° | Norm. Kulturlfl. | Aqua destill. | NH_4CNS | NH_4NO_3 | NH_4Cl | $\text{NH}_4\text{Ac.}$ | $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ | KCNS | KNO_3 | KBr | KCl | K_2SO_4 | NaNO_3 | NaCl | Na-Acet. |
|-----------------|------------------|---------------|-------------------------|--------------------------|------------------------|-------------------------|------------------------------|------|----------------|------|------|-------------------------|-----------------|------|----------|
| 44 $^{\circ}$ C | 8.7" | 9.4" | 8.5" | 8.1" | 8.2" | 8.3" | 8.2" | 8.5" | 10" | 8.9" | 9.9" | 11.3" | 13" | 9.7" | 13.9" |
| 42 $^{\circ}$ | 29.2" | 55" | 18" | 17" | 21" | 22 | 19 | 28 | 46 | 38 | 51 | 63 | 48 | 32 | 60 |
| 40 $^{\circ}$ | 264" | 202" | 33" | 53" | 56" | 75 | 64 | 105 | 194 | 238 | 267 | 282 | 203 | 262 | 278 |
| 38 $^{\circ}$ | 1365" | 342" | 58" | 93" | 159" | 169 | 126 | 425 | 945 | 982 | 995 | 1045 | 895 | 1218 | 1230 |

| T ^o | LiNO ₃ | LiBr | LiCl | Li ₂ SO ₄ | Li-Ac. | RbCl | MgCl ₂ | MgSO ₄ | Sr(NO ₃) ₂ | SrCl ₂ | Ca(CNS) ₂ | Ca(NO ₃) ₂ | CaBr ₂ | CaCl ₂ |
|----------------|-------------------|--------|-------|---------------------------------|--------|--------|-------------------|-------------------|-----------------------------------|-------------------|----------------------|-----------------------------------|-------------------|-------------------|
| 44° C | 10.6'' | 12.5'' | 9.9'' | 10.4'' | 10.8'' | 13.5'' | 14.2'' | 11.7'' | 15.2'' | 14.2'' | 8.2'' | 13.5'' | 15.6'' | 12.6'' |
| 42° | 71 | 46 | 52 | 41 | 85 | 53 | 33 | 42 | 57 | 56 | 24 | 55 | 42 | 44 |
| 40° | 301 | 271 | 98 | 126 | 273 | 256 | 145 | 194 | 236 | 180 | 68 | 248 | 223 | 207 |
| 38° | 1250 | 928 | 425 | 676 | 983 | 993 | 632 | 1185 | 951 | 1015 | 142 | 1082 | 1017 | 1020 |

zeiten in der Kulturlösung zeigen (Kontrolle!), die Mittelwerte aus allen den Kontrollversuchen, die bei jeder Versuchsserie angestellt wurden, darstellen, und dass die Tiere vor den Versuchen 30 Min. in den betreffenden Salzlösungen gelegen haben.

Man ersieht aus Tabelle 3, dass bei den Temperaturen 44° u. 42° C alle NH₄-Salze und Rhodanide die Koagulation des Plasmas fördern, alle anderen Salze sie aber hemmen.

Bei 40° C tritt aber eine merkliche Änderung in der Wirkung der Salze auf die Hitze-koagulation zutage, indem nur einige Salze — wie K₂SO₄, Na-Acet. u. LiNO₃ — die Koagulation des Plasmas hemmen, alle anderen aber auf sie fördernd wirken.

Bei 38° C beschleunigen schon alle angewandten Neutralsalze die Hitze-koagulation des Paramaecienplasmas, und zwar am meisten die NH₄-Salze und Rhodanide, am mindesten — NaCl, Na-Acet., LiNO₃ und einige Sr- u. Ca-Salze.

Im ganzen kann man die angewandten Neutralsalze nach ihrer Wirkung auf die Hitze-koagulation des Paramaecienplasmas in zwei Gruppen teilen: die Salze der ersten Gruppe (siehe Fig. 5) (NH₄-Salze u. Rhodanide) fördern die Hitze-koagulation bei allen Temperaturen, die Salze der zweiten Gruppe (siehe Fig. 6), zu denen alle anderen von mir angewandten Neutralsalze (Nitrate, Chloride und Sulfate) gehören, fördern die Hitze-koagulation nur bei Temperaturen unter 40° C, darüber aber üben sie eine hemmende Wirkung auf die Geschwindigkeit der Hitze-koagulation des Paramaecienplasmas aus.

Zur Ergänzung der Tabelle 3 sei noch hinzugefügt, dass die Paramaecien in den 0,05 norm. Ba(CNS)₂- u. BaCl₂-Lösungen bei Zimmertemperatur schon nach 30—60 Minuten absterben, weshalb auf länger dauernde Versuche mit diesen Salzen verzichtet werden musste, ebenso wie mit Mg(NO₃)₂, in welcher Lösung

die Paramaecien bei 0,05 norm. Konzentration nach 40—90 Minuten zugrunde gehen. In NH_4CNS -, NH_4NO_3 - u. NH_4Cl -Lösungen lebten die Paramaecien bei Zimmertemperatur (19—20° C) — 3—5 Stunden, in NH_4 -Acet., $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ -, $\text{Ca}(\text{CNS})_2$ - und MgCl_2 -Lösungen — 12—15 Stunden, in LiCl -, Li_2SO_4 -, Li -Acet.- u. KCNS -Lösungen — bis 24 Stunden, in den anderen von mir angewandten Neutralsalzlösungen aber 3—6 Tage, in einzelnen Fällen noch länger.

Wenn wir jetzt nach den Ursachen dieser Erscheinungen bei der Wirkung der Neutralsalze auf die Hitzeoagulation des Paramaecienplasmas fragen, dann müssen wir die obenerwähnten zwei Gruppen von Neutralsalzen getrennt voneinander betrachten. Zu der ersten Gruppe gehören die schnell ins Plasma eindringenden und daher giftig wirkenden, zu der zweiten — die langsamer durch das Plasma permeierenden und infolgedessen nicht giftigen Salze (vgl. Kaho), und wenn wir annehmen, dass das Plasma ein System von hydrophilen Kolloiden darstellt, in dem die Eiweissstoffe und Lipide in Verbindung miteinander oder getrennt vorkommen, so dürfen wir auch hier bis zu einem gewissen Grade dieselben Gesetzmässigkeiten, die bei den organischen Kolloiden (Albuminen, Globulinen, Casein, Edestin, Gelatin, Lecithin, Cholesterin, Agar-Agar etc.) gefunden worden sind, auf die Plasmakolloide ausdehnen. Da die Versuche bei pH 7.7 durchgeführt wurden, müssen wir annehmen, dass wir es im Paramaecienplasma mit negativen Kolloiden zu tun haben. Wie aber von Pauli und Handowsky gezeigt worden ist, wird mit dem Steigen der Ionisation, resp. mit der Erhöhung der OH' -Ionenkonzentration in der Lösung bis zu einer bestimmten Grenze, — die Hitzeoagulation der Kolloide gehemmt. Setzt man aber zu den alkalischen Kolloiden Neutralsalze hinzu, oder steigert man die OH' -Ionenkonzentration, so wird die Ionisation und Hydratation der Kolloidlösungen herabgesetzt; und in dem Masse, wie diese Herabsetzung geschieht, wird die Hitzeoagulation der Kolloide gefördert. Bei den Plasmakolloiden kann diese Wirkung der Salze nur nach dem Eindringen der Salze ins Plasma zur Geltung kommen. Bekanntlich ist aber die Durchdringungsgeschwindigkeit der Neutralsalze sehr verschieden, wie es von verschiedenen Autoren (Tröndle, Kaho, Ruhland etc.) bei den Pflanzenzellen gezeigt worden ist. So hat besonders Kaho nachgewiesen, dass die Permeationsgeschwindigkeit der Neutralsalze durch das Pflanzenplasma nach der Hofmeisterschen oder lyotropen

Reihe der Anionen $\text{CNS} > \text{I} > \text{Br} > \text{NO}_3 > \text{Cl} > \text{Acet.} > \text{SO}_4 > \text{Citr.}$ beschleunigt und von den Kationen nach der Reihe $\text{K} < \text{Na} < < \text{Li} < \text{Mg} < \text{Ba} < \text{Ca}$ gehemmt wird, so dass die Alkali-Rhodanide, Iodide und Bromide besonders schnell in das Plasma eindringen können, am langsamsten aber die Alkali-Sulfate und die Erdalkalisalze (abgesehen von den Rhodaniden!)¹⁾. Weiter ist gezeigt worden, dass die dehydrierende oder koagulierende Wirkung bei allen Neutralsalzen nicht gleich gross ist und dass die verschiedenen Kolloidlösungen von Alkalisalzen in geringerem Masse gefällt werden als von Erdalkalisalzen (Borges-Neubauer, Pauli-Handowsky, M. Fischer). Ebenso haben Hannsteen-Cranner und Kaho gezeigt, dass die Erdalkalisalze auf die Plasmaoberschicht fällend (dehydrierend) wirken, und deshalb selber sehr langsam durch das Plasma permeieren können, während die Rhodanide, Iodide und Bromide, die auf die Ober-schicht des Plasmas aufquellend wirken, schnell ins Plasma einzudringen vermögen.

Von der Permeationsgeschwindigkeit der Neutralsalze hängt andererseits aber auch ihre Giftwirkung auf das Plasma ab. So hat Kaho gezeigt, dass die Rhodanide, Iodide und Bromide für das Pflanzenplasma viel giftiger sind, als die Chloride, Acetate und Sulfate. Ebenso konnte ich²⁾ nachweisen, dass die NH_4 -Salze in alkalischen und sauren Lösungen die Permeationsfähigkeit der OH' - und H' -Ionen sehr stark fördern und besonders in sauren Lösungen auf das Pflanzenplasma auch sehr giftig wirken, und dass $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ umgekehrt nur in alkalischer Lösung für das Plasma giftig ist, so dass die Reaktion der Lösungen bei der Giftwirkung der Salze eine grosse Rolle spielt. Weiter ist die Giftwirkung der Neutralsalze, ebenso wie ihre Permeationsgeschwindigkeit, auch von der Konzentration der Salze und der Temperatur abhängig.

Alle die oben erwähnten Tatsachen im Auge behaltend, können wir die Wirkung der Neutralsalze der ersten Gruppe auf die Hitzekoagulation des Paramaecienplasmas folgendermassen erklären: diese Salze permeieren durch das Plasma sehr schnell und reagieren mit den Plasmakolloiden, indem weniger dissoziierte Salzverbindungen gebildet werden; dabei wird aber das Plasma selbst

1) Fast dieselbe Reihenfolge ist neuerdings auch von Gellhorn bei dem Eindringen der Neutralsalze in tierische Eier und Spermatozoidzellen festgestellt worden.

2) Bioch. Zeitsch. **166**, 105, 1925 u. **170**, 377, 1926.

zu stark verändert, vergiftet, so dass es abstirbt und koaguliert. Dass dabei die Koagulationsgeschwindigkeit von der Salzmenge, resp. von der Permeationsgeschwindigkeit abhängt, kann man daraus ersehen, dass bei NH_4 -Salzen die Hitze-koagulation nach der lyotropen Reihe der Anionen gefördert wird, wie dies aus Fig. 5 zu ersehen ist.

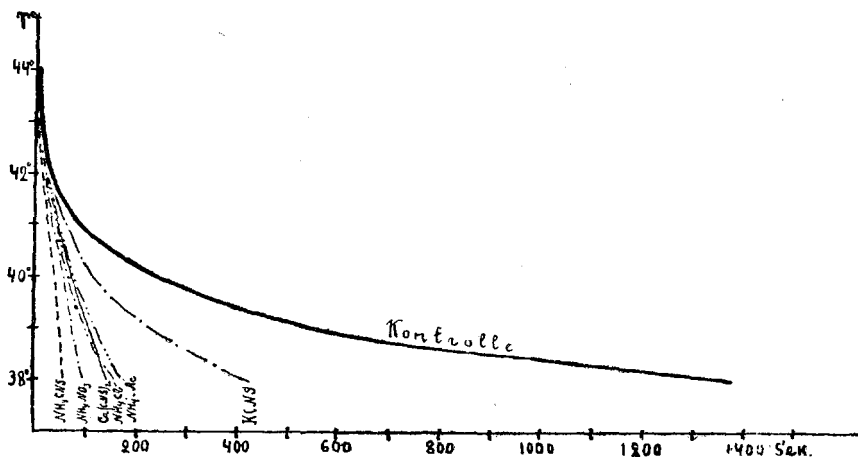


Fig. 5. Die Wirkung der Salze der ersten Gruppe auf die Hitze-koagulation des Paramoebienplasmas.

Ausser den NH_4 -Salzen und Rhodaniden gehören zu der ersten Gruppe noch BaCl_2 und $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$, die, wie erwähnt, viel giftiger auf das Paramoebienplasma wirken als die anderen in der Tabelle aufgeführten Salze. Bei diesen Salzen muss man eine spezifische Giftwirkung auf das Plasma annehmen. Die dehydrierende Wirkung des BaCl_2 auf das Alkalieiwiss (nach Pauli-Handowsky), ebenso wie auf Lecithin und Cholesterin (nach Porges-Neubauer), ist nicht geringer als die der anderen Erdalkalisalze; demzufolge könnte BaCl_2 auch nicht schneller durch das Plasma permeieren als die anderen Erdalkalisalze, und darum kann man seine Giftwirkung wahrscheinlich nicht durch das schnelle Eindringen ins Plasma erklären. $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ übt, wie es von Brenner und von mir (1926) gefunden worden ist, eine giftige Wirkung auf das Pflanzenplasma nur in neutralen und alkalischen Lösungen aus, nicht aber in saurer Lösung. Ebenso verschwindet die Giftigkeit dieses Salzes [$\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$] bei Anwesenheit des K-Ions in alkalischer Lösung (bei *Viola*-Zellen).

Wenn wir uns jetzt der zweiten Gruppe der Neutralsalze zuwenden und ihre Wirkung auf die Hitzeoagulation des Paramaecienplasmas verfolgen, so können wir bemerken, dass bei Temperaturen unter 40° C auch hier bei einzelnen Kationen (K, Mg, Sr, Ca) die Hitzeoagulation von Nitraten und Chloriden mehr gefördert wird als von Sulfaten, so dass die Wirkung dieser Salze auf die Koagulation von der Permeationsgeschwindigkeit des Salzes nach der lyotropen Reihe abhängig ist, und dass die Hitzeoagulation von den Alkalisalzen mehr als von den Erdalkalisalzen gefördert wird. Es besteht also hier — bei Tierzellen — dieselbe Abhängigkeit zwischen der Hitzeoagulationsförderung und der Permeationsgeschwindigkeit der Salze, welche von K a h o (1921, 1924) bei Pflanzenplasma festgestellt worden ist. Nur die Li-Salze nehmen eine besondere Stellung ein, da bei ihnen die Wirkung auf die Hitzeoagulation des Paramaecienplasmas nicht nach der lyotropen Reihe, sondern nach folgender Anionenreihe stattfindet: $\text{Cl} > \text{SO}_4 > \text{Br} > \text{NO}_3$. Diese Abweichung kann wahrscheinlich durch die Wirkung der Temperatur auf die Eindringungsgeschwindigkeit dieser Salze erklärt werden. Sehr wenig wird die Hitzeoagulation von NaCl beeinflusst. Dass NaCl im Vergleich mit den anderen Neutralsalzen auf das Tierplasma sehr wenig wirkt, hat auch M. Fischer erwähnt.

Im ganzen bemerken wir, dass die Salze der zweiten Gruppe, da sie langsamer ins Plasma einzudringen vermögen, bei Temperaturen unter 40° die Hitzeoagulation des Paramaecienplasmas weniger fördern können als die Salze der ersten Gruppe, und dass die Beeinflussung der Hitzeoagulation von der Eindringungsgeschwindigkeit dieser Salze abhängt (Fig. 6).

Schwerer ist es aber zu erklären, warum die Salze der zweiten Gruppe bei Temperaturen über 40° C die Hitzeoagulation des Paramaecienplasmas hemmen. Wie gesagt, hatten die Paramaecien vor den Versuchen mindestens 30 Minuten in den Salzlösungen gelegen, so dass die Salze eine gewisse Zeit hatten das Plasma zu durchdringen. Ausserdem muss man berücksichtigen, dass die Salze nicht nur durch die äussere Zellwand (Pellicula) in die Zelle hineinzudringen vermögen, sondern dass sie auch durch die Cytopharynx unmittelbar in die Nährvakuolen gelangen, wodurch die Wirkungsfläche der Salze auf das Plasma bedeutend vergrössert wird. Wie die Beschaffenheit der Zellwand der Vakuolen bei den Paramaecien auch sein mag, immerhin muss man

annehmen, dass die Salze aus den Nährvakuolen nur nach den Permeabilitätsgesetzen ins Plasma gelangen.

Nun haben aber Engelman und insbesondere Nierenstein gezeigt, dass die Flüssigkeit der Nährvakuolen bei Parameccien in ihrer ersten Verdauungsperiode eine saure Reaktion hat; es muss also die alkalische Reaktion der aufgenommenen Flüssigkeit in den Nährvakuolen neutralisiert und dann versauert werden. Im Zusammenhang mit dieser Erscheinung müssen die Permeabilitätsverhältnisse der Nährvakuolen von denjenigen des alkalischen Aussenmediums etwas abweichen, und überhaupt muss die Wirkung der Neutralsalze auf das Plasma in alkalischer Lösung sich bedeutend verwickeln. Wie diese

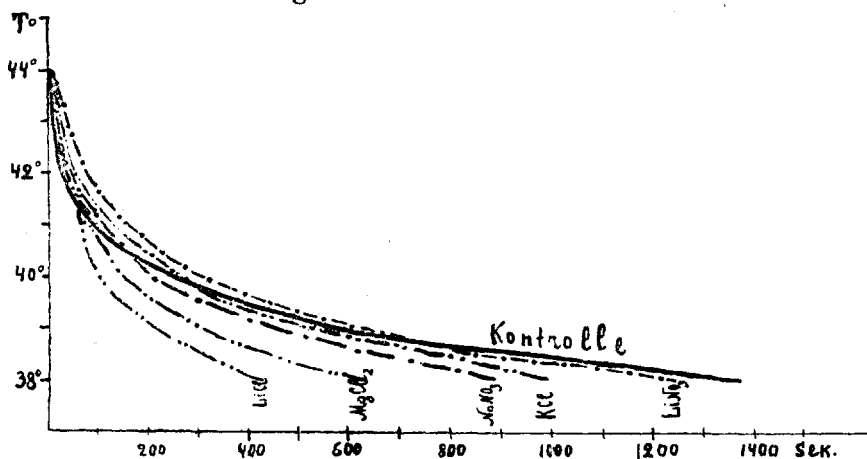


Fig. 6. Die Wirkung der Salze der zweiten Gruppe auf die Hitzekoagulation des Parameccienplasmas.

Permeabilitätsverhältnisse von aussen und innen sich mit dem Steigen der Temperatur verändern, ob sie immer im Gleichgewicht bleiben und inwieweit die Hitzekoagulationserscheinungen des Plasmas von diesen Besonderheiten beeinflusst werden, darüber haben wir gar keine Daten. Jedenfalls muss man einstweilen annehmen, dass bei Temperaturen über 40° C in den erwähnten Salzlösungen irgendwelche Veränderungen im Plasma zustande kommen, wodurch das Plasma resistenter gegen die Hitze wird, als in gewöhnlicher Kulturlösung.

Aus diesen Darlegungen kann man schliessen, dass das Parameccienplasma in bezug auf die Permeabilität und auf die Wirkung der Neutralsalze auf die Hitzekoagulation sich dem Pflanzen-

plasma sehr ähnlich verhält. Und wenn wir die beschleunigende Wirkung der Neutralsalze auf die Hitze koagulation des Paramaecienplasmas durch ihre Durchdringungsgeschwindigkeit dem Plasma gegenüber erklärt haben, so können wir anderseits nach den Hitze koagulationszeiten bei konst. Temperaturen unter 40° C die Permeationsgeschwindigkeit der Neutralsalze durch das Paramaecienplasma bestimmen.

Wollen wir die Hitzeresistenz des Paramaecienplasmas mit derjenigen anderer tierischer und pflanzlicher Zellen vergleichen, so finden wir einige Angaben über die Koagulationszeiten bei konstanten Temperaturen in der Tabelle 4.

Tabelle 4.

| Paramaecium caudatum (Port) | Frosch-Gastrocnem. (Buglia) | Spirogyra (Lepeschkin) | Beta vulgaris (Lepeschkin) |
|-----------------------------|-----------------------------|------------------------|----------------------------|
| 44° C — 8,7'' | 48° C — 15'' | 50° C — 73'' | 85° C — 6'' |
| 42° „ — 29'' | 45° „ — 30'' | 47° „ — 225'' | 70° „ — 42'' |
| 40° „ — 264'' | 43,20° „ — 480'' | 44° „ — 600'' | 64° „ — 96'' |
| 38° „ — 1365'' | 42,20° „ — 900'' | 41° „ — 2240'' | 60° „ — 138'' |
| 36° „ — 2820'' | 41,20° „ — 4380'' | 38° „ — 5533'' | 55° „ — 282'' |
| | 39,50° „ — 4920'' | | 50° „ — 558'' |
| | | | 45° „ — 1800'' |

Man ersieht aus dieser Tabelle, dass das Paramaecienplasma viel empfindlicher gegen die Hitze ist, als das Plasma der Froschmuskeln und Pflanzenzellen. So koaguliert bei 45° C das Plasma von *Paramaecium* in 3—5 Sek., von *Frosch-Gastrocnemius* in 30 Sek., von *Spirogyra* in ca 400 Sek. und von *Beta vulgaris* in 1800 Sekunden. Diese Verschiedenheiten in der Hitze koagulationsgeschwindigkeit könnten wohl darauf hinweisen, wie verschieden das Plasma der verschiedenen Organismen gebaut ist.

Weiter verfolgte ich den Gang der Hitze koagulation unter dem Mikroskope auf dem Wärmetische. Da bei gewöhnlicher Beleuchtung die Einzelheiten der Koagulation im Plasma nicht genügend deutlich zu unterscheiden sind, so kontrollierte ich im Detail den Gang der Koagulation stets unter einem anderen Mikroskope, indem ich die Paramaecien-Präparate vom

Wärmetische möglichst schnell auf ein anderes mit Leitzischem Spiegelkondensator versehenes Mikroskop übertrug und sie dann auf dunklem Felde bei verschiedenen Vergrößerungen bis Zeiss K 20×58 untersuchte. Bei diesen Beobachtungen konnte ich vier Stufen der Hitzekoagulation des Paramaecienplasmas unterscheiden ¹⁾.

1. Auf der ersten Stufe wird die Permeabilität des Plasmas merklich gesteigert, so dass das Wasser aus der Umgebung in die Zelle eindringt und die Paramaecien infolgedessen anschwellen. Parallel mit dieser Formveränderung der Zelle gehen die zu dieser Zeit sehr unruhig gewordenen Bewegungen der Tiere in spiralförmige Bahnen auf einer Kegelfläche über. Die Tätigkeit der pulsierenden Vakuolen ist sehr lebhaft. Im Plasma kann man aber ultramikroskopisch keine Verdichtung wahrnehmen.

2. Zweite Stufe. Das Plasma fängt an der Zelloberfläche zu koagulieren an (ultramikroskopisch — eine Aufhellung!); der Makronukleus der Zelle ist aber noch ganz normal. Die Bewegungen der Tiere gehen in eine Rotation um die Längsachse über; zuletzt hören sie aber ganz auf, und die Tiere fallen gewöhnlich auf den Boden. Die Pulsation der Vakuolen hört am Ende dieser Stufe auf. Die Zilienschläge sind aber noch ganz normal.

3. Dritte Stufe. Das Plasma fängt von den beiden Polen an zu koagulieren, so dass man im ganzen Plasma an den Zellpolen ultramikroskopisch die Körnchen (Verdichtung!) deutlich wahrnehmen kann. Der Makronukleus ist noch ganz normal. Die Pulsationstätigkeit der pulsierenden Vakuolen hat aufgehört. Die Zilien schlagen etwas langsamer als vorher.

4. Vierte Stufe. Die Koagulation hat sich schon über das ganze Plasma verbreitet. Auch der Makronukleus fängt an zu erstarren, und das Tier stirbt ab. Die Zilien schlagen nach dem Tode des Tierkörpers noch eine Zeitlang weiter. Später zerfällt das Koagulum des Plasmas in kolloide Phasen, die man mikrochemisch untersuchen kann. Manchmal ist es zu beobachten, wie aus dem erstarrten Koagulum ganz klare flüssige Phasen tropfenweise ausscheiden. In diesen Tropfen kann man nach kurzer Zeit die Entstehung kolloider Teilchen, welche

1) Siehe „Protoplasma“ Bd. I, S. 576.

lebhaft Brownische Bewegungen zeigen, wahrnehmen. Wenn jedoch die Erstarrung des Plasmas bei 45—48° C zu rasch erfolgt, so bleibt das Plasma auch nach dem Tode der Zellen eine kurze Zeit hell und durchsichtig.

Die Aufeinanderfolge dieser vier Phasen kann man bei jeder Temperatur von 35—36° C an, wo das Plasma zu koagulieren anfängt, beobachten. Bei niederen Temperaturen dauern diese Phasen viel länger und man kann hier die Übergänge besser verfolgen, als bei höheren Temperaturen.

Die Hitzeagulation des Paramaecienplasmas geschieht in gewöhnlicher Kulturlösung sehr gleichmässig und ohne irgendwelche plötzliche lokale Schrumpfungen, wie man sie bei der Koagulation des Plasmas in Salzlösungen fast immer bemerken kann.

Weiter konnte ich wiederholt feststellen, dass die Koagulation des Paramaecienplasmas auf der ersten und zweiten Stufe reversibel ist und dass die Tierchen, die schon auf den Boden gefallen und unbeweglich waren und in deren Plasma die Tätigkeit der pulsierenden Vakuolen aufgehört hatte, beim Übertragen ins Leitungswasser mit Temperaturen unter 32° C wieder erwachten. Zum Beispiel: Paramaecien, die 16 Minuten lang bei konst. T° 38° C gelebt hatten, wonach fast alle Tierchen unbeweglich auf den Boden gesunken waren, wurden aus dem Experimentierrohr in reines Wasser von 20° C umgegossen. Nach einigen Stunden konnte man schon viele von ihnen in Bewegung sehen; nach 17 Stunden aber waren sie fast alle wieder erwacht. Ein anderes Beispiel: Paramaecien, die 2,5—3 Min. einer Temperatur von 40° C ausgesetzt gewesen waren und unbeweglich auf dem Boden lagen, erwachten nach 6—10 Stunden wieder bei 18° C in Leitungswasser.

Die Wirkung der Temperatur auf die Tätigkeit der pulsierenden Vakuolen.

Besonders auffallend sind bei der Koagulation des Paramaecienplasmas die Veränderungen in der Tätigkeit der pulsierenden Vakuolen und die Abkürzung ihrer Frequenzzeit bei Temperaturerhöhung, welche Erscheinungen schon von Degen (1905), Zülzer (1907) und Kanitz (1907) beschrieben worden sind. Auch gibt Burian (1924) einen zusammenfassenden Überblick über die Behandlung dieser Frage, woraus ersichtlich ist, dass die Temperaturerhöhung auf die Tätigkeit der pulsierenden Vakuolen

olen beschleunigend wirkt, das Steigen der Salzkonzentration in den Kulturlösungen dagegen eine Hemmung in der Tätigkeit und eine Verlängerung der Frequenzzeit hervorruft. Die erwähnten Autoren haben die Frage über die Wirkung der Temperatur auf die Tätigkeit der pulsierenden Vakuolen nur zum Teil geklärt, indem sie ihre Untersuchungen mit verschiedenen Ciliaten nur bis 30—35° C fortgesetzt haben. Wie aber die Pulsation der Vakuolen bei Temperaturen über 35° C vor sich geht, bei denen das Plasma schon zu koagulieren anfängt, darüber konnte ich in der Literatur keine Angaben finden. Es ist ja bekanntlich sehr schwer, bei höheren Temperaturen, schon bei 34—35° C, wo die Tiere äusserst unruhig werden, die Pulsation der Vakuolen zu unterscheiden: um so schwerer ist die Bestimmung der Frequenzzeit bei noch höheren Temperaturen. Da ich über die Plasmakoagulation der Paramaecien bei 35—45° C eingehende Untersuchungen ausführte, konnte ich auch die Bearbeitung dieser Frage bei den erwähnten Temperaturen in Angriff nehmen und sie zum Teil in bezug auf *Paramaecium caudatum* lösen. Später setzte ich meine Untersuchungen in dieser Richtung auch bei niederen Temperaturen bis zu 5° fort.

Um die Bewegungen der Paramaecien aufzuhalten, sind von früheren Autoren verschiedene Mittel angewandt worden: so von Jensen eine verhältnismässig viskose 1—3% Gelatinelösung, von Nierenstein — Filtrierpapierstückchen und Fasern, Baumwollfasern usw., die in den Untersuchungsflüssigkeitstropfen unter dem Deckglase gebracht wurden und an denen die Paramaecien sich tigmotaktisch festhielten. Pütter weist alle diese Hemmungsmittel zurück und empfiehlt die Betrachtung der Tiere in einem freien Flüssigkeitstropfen.

Als ich die obenerwähnten Hemmungsmittel nachprüfte, konnte ich bestätigen, wie es schon Pütter (1900) und Pro w a z e c k (1901) betont haben, dass diese Mittel einen bedeutenden Einfluss auf die Bewegungen und auch auf das Wohlbefinden der Tiere ausüben. So ist die 1—3% Gelatinelösung unter 15° C schon eine recht viskose Masse, wo die Paramaecien sich sehr unwohl und unruhig fühlen, so dass man die Kontraktion der Vakuolen recht schwer verfolgen kann. Bei diesem unruhigen Umherirren sind die physiologischen Prozesse der Zelle, wie Stoff- und Energiewechsel, bedeutend intensiver, demzufolge ist auch die Tätigkeit der pulsierenden Vakuolen lebhafter. Ebenso

unwohl befinden sich die Tiere an den Fasern oder in den Faserbündeln. Auch hier ist beim Durchdringen zwischen den Fasern die Pulsation der Vakuolen lebhafter und die Frequenzzeiten kürzer als bei den sich frei bewegenden oder sich ruhig verhaltenden Tieren. Darum führte ich meine Untersuchungen, dem Rate Pütters folgend, an den Tropfen der Kulturflüssigkeit ohne Zusatz irgendwelcher Aufhaltungsmittel unter dem Deckglase aus, indem ich die sich frei bewegenden Tiere beobachtete, bis sie sich zufällig an einigen Bakterienhaufen still verhielten, um Nahrung aufzunehmen.

Jensen (1891), Pütter (1911) u. a. haben gezeigt, dass die Pulsationsgeschwindigkeit bei den Paramaecien und den anderen Ciliaten in weiten Grenzen schwanken kann. Um nicht in Irrtum zu verfallen, muss man möglichst viele Einzelbeobachtungen machen und aus diesen die Mittelwerte berechnen; und nur nach den Mittelwerten kann man zu brauchbaren Schlussfolgerungen kommen. Bei meinen Untersuchungen habe ich die Mittelwerte der Frequenzzeiten folgendermassen berechnet. Da die präorale Vakuole bei *Par. caud.* gewöhnlich schneller pulsiert als die kaudale, so bemühte ich mich die Pulsationsgeschwindigkeit der beiden Vakuolen bei jedem Tiere, wo es möglich war, zu bestimmen und aus diesen die Mittelwerte für das Tier zu berechnen. Es ist aber — besonders bei höheren Temperaturen — sehr schwer die Frequenzzeiten der beiden Vakuolen bei jedem Tier zu bestimmen, und so wurden auch die einzelnen Frequenzzeiten der präoralen oder kaudalen Vakuolen der verschiedenen Tiere getrennt verzeichnet. Aus den einzelnen Beobachtungsdaten könnten ja auch die Mittelwerte der Frequenzzeiten bei bestimmten Temperaturen für die präoralen und kaudalen Vakuolen berechnet werden usw.

In den Tabellen 5 und 6 sind zu allen Temperaturangaben vier Reihen von Daten gegeben: unter a) und b) sind die Frequenzzeiten ein und desselben Tieres verzeichnet, und zwar so, dass die untereinander stehenden Zahlen unter a) und b) von ein und demselben Tiere stammen: die erste Zahl in der Reihe a) und die erste Zahl in der Reihe b) von einem Tier, die zweite Zahl in der Reihe a) und die zweite Zahl in der Reihe b) von einem zweiten Tier usw. In den Reihen c) und d) sind diejenigen Frequenzzeiten der präoralen und kaudalen Vakuolen verzeichnet, die von verschiedenen Tieren stammen. In der vierten Spalte stehen die Mittelwerte, die aus den Reihen a),

b), c), und d) berechnet sind, während in der fünften und sechsten Spalte die aus den Angaben der vierten Spalte berechneten Mittelwerte der präoralen und kaudalen Vakuolen sich befinden. Die siebente Spalte enthält die mittleren Frequenzzeiten für ein ideales Tier, die aus den mittleren Frequenzzeiten der präoralen und kaudalen Vakuolen (fünfte und sechste Spalte) berechnet sind. Nach den Angaben der siebenten Spalte sind die Kurven in Fig. 8 gezeichnet worden. In der letzten Spalte stehen die aus der siebenten Spalte berechneten Pulszahlen in einer Minute, nach welchen die Kurven in Fig. 9 ausgeführt sind.

Bei Temperaturen über 40° C war es unmöglich, bei einem Tiere die Pulsation der beiden Vakuolen zu verfolgen, da hier die Tiere sehr unruhig sind. Hier sind die Frequenzzeiten nur betreffs zufällig beobachteter Tiere angegeben. Und da das Paramaecienplasma bei Temperaturen über 40° sehr bald zu koagulieren beginnt, und im Zusammenhang mit dieser Erscheinung auch die Pulsationsgeschwindigkeit sich ändert, die Pulsation langsamer wird und zuletzt zum Stillstand kommt, so sehen wir in den letzten Reihen ganz verschiedene Zahlen, wobei das Ausbleiben der Vakuolentätigkeit durch ∞ angedeutet ist. Die Berechnung der Mittelwerte aus diesen Angaben hat keinen Sinn mehr.

Es muss noch bemerkt werden, dass man bei Temperaturen über 35—37° C die Paramaecienpräparate nur eine sehr kurze Zeit beobachten kann und die neuen Beobachtungen immer mit frischen Präparaten beginnen muss, wo die Paramaecien noch unbeschädigt sind.

Aus den Angaben der Tabelle 5 können wir folgendes ersehen:

1) Im allgemeinen ist bei allen Temperaturen die Pulsation der präoralen Vakuolen schneller als die der kaudalen. Aber man kann in der Tabelle auch Fälle finden, wo die beiden Vakuolen mit gleicher Geschwindigkeit pulsieren oder sogar umgekehrt — die kaudalen schneller als die präoralen. Solche Fälle konnte ich besonders bei Temperaturen von 39—40° beobachten, wenn die Oberschicht des Plasmas an dem einen Pol der Zelle früher zu erstarren begonnen hatte, als an dem anderen Pol. Manchmal kommen aber auch Paramaecien vor, die mehr als zwei (am häufigsten drei!) pulsierende Vakuolen besitzen. In diesen Fällen pulsieren die zwei an dem einen Pol der Zelle sich befindenden Vakuolen langsamer als die eine am anderen Pol.

Tabelle 5.
 Paramaecium caudatum in der Kulturflüssigkeit.

| Temperatur C | | Frequenzzeiten in Sekunden | Mittelwerte | Mittelwerte d. präor. Vakuole | Mittelwerte d. kaud. Vakuole | Mittelwerte für das Tier | Pulszahl in einer Minute |
|-----------------|-------------|---------------------------------|-------------|-------------------------------------|------------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|
| 50 | a) präor.) | 127 ; 165.6; 160 ; 165 ; 163.2; | 156.16 | 151 | 161.8 | 156.4 | 0.38 |
| | b) kaud.) | 157 ; 168.2; 160 ; 170.4; 169 ; | | | | | |
| | c) präor. | 131 ; 125.5; 138 ; 155 ; 180 ; | 145.9 | | | | |
| | d) kaud. | 135 ; 129 ; 172.5; 178 ; 182 ; | 159.3 | | | | |
| 100 | a) präor.) | 42.6; 43.1; 44 ; 43.2; 38.6; | 42.3 | 44.4 | 48.1 | 46.25 | 1.3 |
| | b) kaud.) | 45.2; 44.3; 46.6; 42.9; 35.4; | | | | | |
| | c) präor. | 35.6; 37.4; 48 ; 53.5; 57.6; | 46.4 | | | | |
| | d) kaud. | 43.5; 49.3; 56.5; 58.4; 59 ; | 53.3 | | | | |
| 150 | a) präor.) | 23.4; 24.6; 26.4; 27 ; 28.2; | 25.9 | 26.4 | 28 | 27.2 | 2.2 |
| | b) kaud.) | 28.6; 26.8; 29 ; 29.6; 32 ; | | | | | |
| | c) präor. | 26.7; 21.6; 25.8; 29.4; 31 ; | 26.9 | | | | |
| | d) kaud. | 22.6; 24.3; 27.9; 28.2; 34.2; | 27.5 | | | | |
| 200 | a) präor.) | 13.5; 13.6; 12.5; 10 ; 10.2; | 11.9 | 11.9 | 13.25 | 12.6 | 4.75 |
| | b) kaud.) | 13.5; 13.8; 14 ; 12 ; 12.4; | | | | | |
| | c) präor. | 10 ; 10.4; 13.6; 12 ; 14.1; | 12 | | | | |
| | d) kaud. | 12 ; 12.6; 13 ; 14.6; 15 ; | 13.4 | | | | |
| 250 | a) präor.) | 7.6; 8 ; 8.2; 8.4; 9 ; | 8.3 | 8.2 | 9.4 | 8.8 | 6.8 |
| | b) kaud.) | 8.5; 9 ; 9.2; 9.6; 10.2; | | | | | |
| | c) präor. | 7 ; 8.2; 7.6; 8 ; 9.5; | 8.1 | | | | |
| | d) kaud. | 8 ; 9.4; 9.5; 10.2; 11 ; | 9.6 | | | | |
| 300 | a) präor.) | 6 ; 6.5; 6.8; 8 ; 6 ; | 6.6 | 6.2 | 7.3 | 6.7 | 8.8 |
| | b) kaud.) | 7.5; 6.5; 7.6; 8.6; 7 ; | | | | | |
| | c) präor. | 5 ; 5.4; 5.5; 5.8; 7.8; | 5.9 | | | | |
| | d) kaud. | 6 ; 6.5; 7.5; 8 ; 8.6; | 7.3 | | | | |
| 350 | a) präor.) | 5.1; 5.2; 5.2; 5.8; 6.2; | 5.5 | 5.8 | 6.5 | 6.1 | 9.8 |
| | b) kaud.) | 6.2; 6.4; 6 ; 6.9; 7.2; | | | | | |
| | c) präor. | 5 ; 5.6; 6 ; 6.5; 7.2; | 6.1 | | | | |
| | d) kaud. | 5.9; 6.0; 6.5; 7 ; 7.2; | 6.5 | | | | |
| 380 | a) präor.) | 5.2; 5.5; 5.8; 6 ; 6 ; | 5.7 | 5.7 | 6.1 | 5.9 | 10.1 |
| | b) kaud.) | 5.4; 5.5; 6.0; 6.5; 7.5; | | | | | |
| | c) präor. | 5 ; 5.6; 5.8; 6.0; 6.2; | 5.6 | | | | |
| | d) kaud. | 5 ; 5.2; 5.7; 6.0; 8.0; | 6.0 | | | | |
| 400 | a) präor.) | 5 ; 5 ; 5.2; 5.8; 4.5; | 5.1 | 5.1 | 5.7 | 5.4 | 11.0 |
| | b) kaud.) | 5.3; 5.5; 5.5; 6.5; 6.0; | | | | | |
| | c) präor. | 4.6; 5 ; 5.2; 5.5; 5.8; | 5.2 | | | | |
| | d) kaud. | 4.5; 5.6; 6.0; 6.0; 7.0; | 5.8 | | | | |
| 40-430 | c) präor. | 4; 8.5; 9; 17; 13.6; 27.8 | 66 | | | | |
| | d) kaud. | 6.2; 9.8; 19; 23; 66 66 66 | | | | | |

Wenn wir aber die individuellen Schwankungen bei der Pulsation der Vakuolen berücksichtigen, so können wir fast bei allen Temperaturen einige Fälle beobachten, wo die präorale Vakuole bei einem Tiere langsamer pulsiert, als die kaudale bei einem anderen Tiere. Gewöhnlich ist die Pulsationstätigkeit in kleineren Paramaecien lebhafter als in grösseren.

2) Die Tätigkeit der pulsierenden Vakuolen wird durch das Steigen der Temperatur beschleunigt.

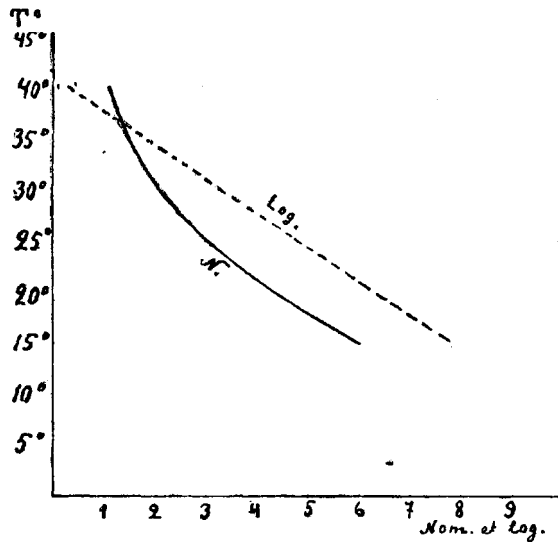


Fig. 7.

nigt. Diese Beschleunigung ist aber nicht proportional der Temperaturerhöhung und steigt nicht gleichmässig bei allen Temperaturen. Auch folgt sie nicht der Vant' Hoff'schen RGT-Regel, wie dies schon von Kanitz (1907) nachgewiesen worden ist. Und wenn wir aus den Angaben der Tabelle 5 die Werte Q_{10}^0 berechnen, dann sehen wir, dass letztere bei niederen Temperaturen viel grösser sind als bei höheren:

| | | | |
|----------------|-----------|---|--------------|
| Q_{10}^0 bei | 5°—15° C | — | 5,78 (6) |
| " " | 15°—25° " | — | 3,08 (3) |
| " " | 25°—35° " | — | 1,44 (1,5) |
| " " | 30°—40° " | — | 1,14 (1—1,2) |

Diese Zahlen zeigen uns, dass die Pulsationstätigkeit bei niederen Temperaturen viel schneller steigt als bei höheren Temperaturen (Fig. 7). Wenn wir statt der Bruchzahlen ihre ab-

gerundeten ganzen Werte nehmen (die in Klammern gegebenen Zahlen!) und wenn wir nach den Logarithmen der letzteren eine Kurve zeichnen, dann erhalten wir eine gerade Linie (Fig. 7).

Mit dem Steigen der Temperatur werden auch die Kontraktionszeiten der pulsierenden Vakuolen kürzer. Bei 5° — 15° geschieht die Kontraktion in $4''$ — $3''$, bei 20° — 30° — in $3''$ — $2''$, bei 30° — 35° — in $2''$ — $1,5''$, über 35° — noch schneller.

3) Vor dem Tode der Paramaecien werden die Frequenzzeiten der Pulsation wieder langsamer und nach einigen immer langsamer werdenden Schlägen hört sie ganz auf.

Wenn wir jetzt nach den Ursachen der Frequenzveränderung fragen, dann können wir in der Literatur die von Kunitz (1907) geäußerte Meinung finden, nach welcher die Tätigkeit der pulsierenden Vakuolen von den im Plasma sich abspielenden chemischen Stoffwechselprozessen abhängig ist. Mit dem Steigen der Temperatur werden die Stoffwechselprozesse lebhafter, und demgemäss werden mehr osmotisch wirksame Abbauprodukte gebildet, welche mehr Wasser in die pulsierenden Vakuolen ziehen. Dieser Erwägung gemäss muss die Pulsationsgeschwindigkeit der Vakuolen regelmässig parallel mit dem Steigen der Temperatur bis zum Tode der Tiere wachsen, was in der Tat aber nicht der Fall ist.

Aus den Untersuchungen von Heilbrunn (1914) ist bekannt, dass die Viskosität des Pflanzenplasmas bei Temperaturen über 35° C rasch steigt. Eine ähnliche Viskositätssteigerung hat Heilbrunn (1923) bei Temperaturen über 30° C bei Cumingia-Eiern festgestellt. Und wenn wir die Tätigkeit der pulsierenden Vakuolen ultramikroskopisch verfolgen, dann können wir direkt beobachten, wie die Pulsation der Vakuolen mit dem Beginn der Koagulation des Plasmas und gerade in der Zeit, wo die Plasmaoberfläche sich verdichtet (ultramikroskopisch sichtbar!) und ihre Viskosität auch merklich gestiegen sein muss, — langsamer wird und parallel mit dem Fortschreiten der Plasmaerstarrung schliesslich aufhört (das Ende der zweiten Koagulationsstufe!). So muss mit dem Steigen der Temperatur und mit dem Wachsen der Viskosität des Plasmas das Auspressen des Wassers aus den pulsierenden Vakuolen, resp. das Platzen des Plasmas erschwert und die Pulsationstätigkeit der Vakuolen gehemmt werden. Endlich, wenn die Viskosität des Plasmas dem osmotischen Druck

in den pulsierenden Vakuolen standhält, bleibt das Platzen des Plasmas und die Pulsation der Vakuolen aus. Durch die Viskositätsveränderung in den Plasmaoberschichten kann ebenso erklärt werden, weshalb die Pulsation der Vakuolen in Tanninlösung sehr verlangsamt und die Volumina der Vakuolen vergrössert werden.

Die zweite Frage ist: woher stammt das Wasser, das sich in den pulsierenden Vakuolen ansammelt?

Es ist von manchen Forschern (Lepeschkin, Kaho) gezeigt worden, dass mit dem Steigen der Temperatur die Permeabilität des Plasmas in bezug auf Wasser und Salze gesteigert wird. So kann man annehmen, dass mit dem Steigen der Temperatur das Wasser aus der Umgebung in grösseren Mengen durch das Plasma eindringt und sich auch in den pulsierenden Vakuolen ansammelt; infolgedessen muss aber auch die Pulsationstätigkeit der pulsierenden Vakuolen steigen. Und schon Zülzer (1907) hat bewiesen, dass das Wasser osmotisch durch das Plasma aus der Umgebung in die Vakuolen eindringt. Er hat nämlich gezeigt, dass man die Tätigkeit der pulsierenden Vakuolen bei verschiedenen Ciliaten durch Steigerung der Salzkonzentration in der Umgebung verlangsamen oder sogar zum Stillstand bringen kann.

Dass das Wasser nicht nur bei der Oxydation der in den Nährvakuolen sich befindenden Kohlehydrate entsteht, konnte ich noch folgendermassen zeigen: als ich die Tätigkeit der pulsierenden Vakuolen bei gut ernährten Paramaecien und bei solchen, die 36—40 Stunden in reinem Wasser gehungert hatten, so dass ihre Nährvakuolen fast leer waren, bei 20°, 36° und 38° C verfolgte, konnte ich keinen merklichen und die gewöhnlichen Pulsationsschwankungen übersteigenden Unterschied feststellen.

Die Tätigkeit der pulsierenden Vakuolen bei *Paramaecium caudatum* wird aber ausser der Temperatur noch von manchen anderen Faktoren, so z. B. von der Zusammensetzung des Mediums, beeinflusst.

Wie schon erwähnt, hängt die Pulsationsgeschwindigkeit der Vakuolen von der Salzkonzentration der Flüssigkeit, in der die Paramaecien sich befinden, ab. Dass aber nicht nur die Elektrolyte, sondern auch die Anelektrolyte dabei von Bedeutung sind, kann man aus der Tabelle 6 ersehen, wo Angaben über die Pulsationstätigkeit der Paramaecienvakuolen in 1—1,5% Gelatinelösung bei verschiedenen Temperaturen aufgeführt sind. Die Tabelle 6 ist analog der Tabelle 5 zusammengestellt, und

Tabelle 6.
P. caud. in 1—1,5% Gelatinelösung.

| Temperatur °C | Die Frequenzzeiten in Sekunden | Mittelwerte | Mittelwerte d. präor. Vakuole | Mittelwerte d. kaud. Vakuole | Mittelwerte f. das Tier | Pulszahl in 1 Minute | |
|------------------|-----------------------------------|--|-------------------------------------|------------------------------------|----------------------------|-------------------------|------|
| | | | | | | | |
| 70 | a } b } | 40,0; 41,3; 42,0; 45 ; 47 ; 43,5; 45,0; 43,3; 50 ; 58 ; | 43 | 43,4 | 48,3 | 45,8 | 1,3 |
| | c d | 40,0; 41,2; 42,5; 44,7; 50 ; 42,6; 43 ; 46,5; 49 ; 63,7; | 43,8 48,9 | | | | |
| 100 | a } b } | 18,0; 18,6; 21,0; 24,1; 26,3; 25,0; 26,5; 27,0; 28,0; 29,2; | 21,6 27,1 | 21,3 | 26,6 | 23,9 | 2,5 |
| | c d | 19,5; 19,6; 20,0; 20,8; 25,6; 19,8; 21,3; 28,0; 30,0; 31,6; | 21,1 26,1 | | | | |
| 150 | a } b } | 13,4; 14,0; 16,0; 18,0; 20,2; 16,0; 16,8; 18,3; 19,0; 23,0; | 16,3 18,6 | 16,6 | 18,3 | 17,4 | 3,4 |
| | c d | 15,0; 15,5; 17,0; 18,2; 19,5; 16,5; 17,3; 17,9; 21,0; 24,0; | 17,0 19,1 | | | | |
| 200 | a } b } | 12,0; 12,5; 14,0; 14,2; 15,0; 13,0; 13,8; 14,0; 16,0; 17,8; | 13,5 14,9 | 13,3 | 15,0 | 14,2 | 4,2 |
| | c d | 12,0; 12,4; 13,0; 14,1; 14,6; 13,6; 15,0; 15,2; 14,0; 18,0; | 13,2 15,2 | | | | |
| 250 | a } b } | 9,1; 9,8; 10,3; 11,5; 12,0; 11,6; 12,0; 13,0; 12,2; 13,0; | 10,5 12,5 | 10,6 | 12,4 | 11,5 | 5,3 |
| | c d | 9,2; 10,8; 11,5; 12,0; 10,0; 10,0; 12,4; 13,0; 12,8; 13,3; | 10,7 12,3 | | | | |
| 300 | a } b } | 7,0; 7,2; 8,0; 9,2; 10,0; 8,0; 8,3; 9,0; 9,0; 10,5; | 8,2 9,0 | 8,1 | 8,9 | 8,5 | 7,0 |
| | c d | 7,0; 7,9; 8,1; 8,2; 9,0; 8,1; 8,3; 8,6; 9,0; 10,0; | 8,0 8,8 | | | | |
| 350 | a } b } | 5,1; 5,2; 5,5; 6,0; 6,5; 5,8; 6,0; 5,5; 6,8; 8,2; | 5,6 6,4 | 5,7 | 6,7 | 6,2 | 9,6 |
| | c d | 5,0; 5,6; 5,8; 6,0; 7,0; 5,6; 6,1; 6,6; 8,2; 8,5; | 5,9 7,0 | | | | |
| 370 | a } b } | 5,0; 5,0; 5,2; 5,8; 6,5; 5,0; 5,2; 5,0; 5,5; 7,0; | 5,5 5,5 | 5,6 | 5,8 | 5,7 | 10,3 |
| | c d | 4,5; 5,0; 5,6; 6,0; 6,2; 5,3; 6,0; 6,2; 6,5; 6,6; | 5,8 6,1 | | | | |
| 400 | a } b } | 4,6; 4,9; 5,0; 5,5; 5,5; 4,9; 5,0; 5,2; 5,6; 5,8; | 5,1 5,5 | 5,2 | 5,6 | 5,4 | 11,1 |
| | c d | 4,8; 5,2; 5,3; 5,5; 5,5; 5,0; 5,6; 5,7; 5,9; 6,3; | 5,3 5,7 | | | | |
| 40-42 | c d | 4,2; 5,0; 8,6; 11; 17; 26; 33; 4,5; 4,8; 6 ; 9; 18; 33; 33 | | | | | |

in den Hauptzügen kann man hier dieselben Erscheinungen, die bei der Analyse der Tabelle 5 in 3 Punkten formuliert wurden, finden, nämlich dass die Pulsationstätigkeit der Vakuolen mit dem Steigen der Temperatur wächst, kurz vor dem Tode der Tiere schwächer wird und zuletzt ganz aufhört. Im einzelnen kommen aber merkbliche Unterschiede vor; besonders charakteristisch ist es, dass die Pulsation der Vakuolen in 1—1,5% Gelatinelösung bei Temperaturen unter 20° viel lebhafter ist, als in der Kulturlösung, bei solchen über 20° dagegen etwas langsamer.

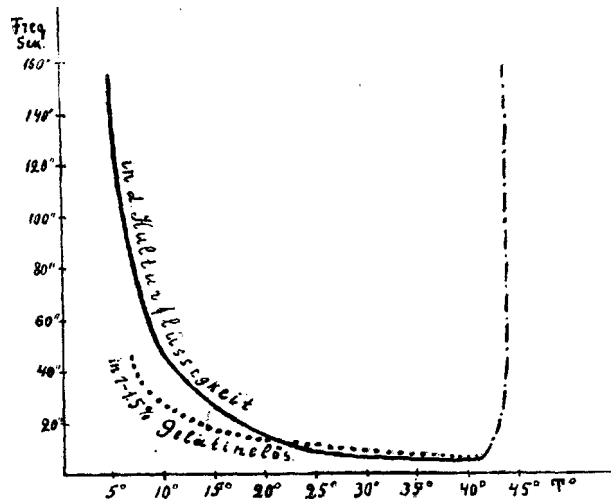


Fig. 8. Die Pulsationsgeschwindigkeit der Vakuolen bei verschiedenen Temperaturen in der Kulturlösung und in Gelatinelösung.

Diese Unterschiede kommen noch besser zum Ausdruck in den Kurven der Fig. 8, die nach den Angaben der siebenten Spalten, aber auch in den Kurven der Fig. 9, die nach den Angaben der letzten Spalten der Tabellen 5 und 6 gezeichnet sind. Dass bei Temperaturen unter 20° die Pulsationstätigkeit der Vakuolen bei den Paramaecien in der Gelatinelösung lebhafter ist als in der Kulturlösung, hängt davon ab, dass die Paramaecien in der Gelatinelösung, die schon bei 20—15° erstarrt, sehr unruhig sind und mit aller ihrer Kraft sich in der erstarrenden Gelatinelösung vorwärts zu bewegen bemühen. Natürlich ist dabei auch ihr Stoff- und Energiewechsel lebhafter. Daher muss hier die Tätigkeit der pulsierenden Vakuolen mit dem Stoff- und Energiewechsel in

Zusammenhang gestellt werden, und die von Kanitz und Burian ausgesprochene Meinung hier eine Bestätigung finden. Warum aber in der Gelatinelösung bei Temperaturen über 20° die Pulsation der Vakuolen langsamer verläuft als in der Kulturlösung, ist schwerer zu erklären.

Die Kurven der Fig. 9 sind typische eingipflige biologische Kurven, wo das Steigen und das Sinken von zwei verschiedenen Faktoren oder Faktorengruppen abhängt. Das Steigen der Kurven

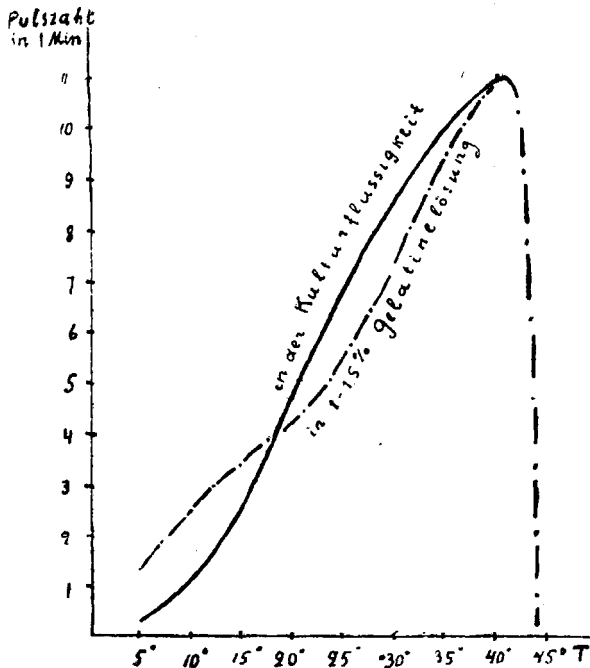


Fig. 9. Die Pulsationsgeschwindigkeit der Vakuolen bei verschiedenen Temperaturen in der Kulturlösung und in Gelatinelösung.

ist hier durch die Temperaturerhöhung und die von der Temperatur abhängigen und sich im Plasma abspielenden Prozesse, wie Stoff- und Energiewechsel, Permeabilität und Viskosität des Plasmas, aber wahrscheinlich auch durch manche andere Faktoren verursacht. Ebenso muss das rasche Sinken der Kurven auch von biologischen Faktoren abhängen. Früher wurde behauptet, dass die Viskosität des Plasmas, die mit dem Steigen der Temperatur bei 40° rasch wächst, als ein zu dieser Gruppe gehöriger Faktor angesehen werden kann. Mit dem Aufhören der Pulsation sam-

meln sich die Abbauprodukte des Plasmas in der Zelle und bringen, durch die Wirkung der Temperatur unterstützt, das Plasma zur Deformation und Koagulation, resp. zum Tode.

Wie gesagt, bleibt die Pulsation der Vakuolen auf der zweiten Koagulationstufe aus. Es gelang mir wiederholt, die eingestellte Pulsation der Vakuolen durch Erniedrigung der Temperatur des Wärmetisches wieder hervorzurufen und damit den besten Beweis für die Reversibilität der Plasmakoagulation in den ersten zwei Phasen zu liefern. Einige Beispiele können diese Erscheinung illustrieren:

1) Nach ca 10 Min., während die Paramaecien unter dem Mikroskope bei 39° betrachtet wurden, waren sie angeschwollen und unbeweglich; nachdem die Pulsation der Vakuolen aufgehört hatte, wurde die Temperatur des Wärmetisches auf 33—32° C erniedrigt. Nach einigen Minuten fingen die Vakuolen wieder an zu pulsieren. Die notierten Frequenzzeiten der präoralen Vakuole von einem Tiere waren:

$$34'' \rightarrow 33'' \rightarrow 27'' \rightarrow 21'' \rightarrow 13.4'' \rightarrow 10''.$$

2) Nach dem Aufhören der Pulsation wurde die Temperatur von 39,2° auf 34° erniedrigt. Die Frequenzzeiten der von neuem zur Pulsation gekommenen kaudalen Vakuole waren: 39'' → 33'' → 25'' → 11''. Jetzt wurde die Temperatur des Wärmetisches wieder bis auf 39° erhöht und das letzte Tier unter dem Mikroskope betrachtet, bis die Pulsation der Vakuolen wieder aufhörte, und dann zum zweitenmal die Temperatur auf 33—32° erniedrigt. Nach einigen Minuten kamen die pulsierenden Vakuolen auch hier wieder in Tätigkeit; die Frequenzzeiten der kaudalen Vakuolen waren: I Freq. 75'', III — 65'', V — 150'', bei VI blieb die Pulsation aus und die Zelle platzte.

Daher muss man die durch Temperatur hervorgerufenen Pulsationsveränderungen bei den Paramaecien als eine sehr wichtige Erscheinung bei der Plasmakoagulation ansehen.

Ultramikroskopische Untersuchungen der Plasmakoagulation.

Weiter verfolgte ich ultramikroskopisch den Verlauf der Koagulation des Paramaecienplasmas in verschiedenen Alkalien und Säuren, in Alkohol und Tanninlösungen und zuletzt in

hypertonischen Neutralsalzlösungen. Dabei konnte ich feststellen, dass die Koagulation in diesen verschiedenen Lösungen in gar mancher Hinsicht sich von der Hitzekoagulation in der Kulturlösung unterscheidet.

Die Plasmakoagulation in alkalischen Lösungen.

In den Hauptzügen ist der Verlauf der Koagulation des Paramaecienplasmas in der Kulturlösung, zu der so viel Alkalie hinzugefügt wurde, bis die OH'-Ionenkonzentration auf pH 8.6—9.0 stieg, folgender, wobei die Koagulationsgeschwindigkeit mit der Erhöhung der OH'-Ionenkonzentration in der Lösung steigt.

In NH₄OH-Lösung sind die Paramaecien bis zum Anfang der Koagulation ihres Plasmas nicht besonders unruhig. Nach sehr kurzer Zeit (je nach der Konzentration der Lösung) fängt der Zellkörper an zu schwellen. Dabei wachsen auch die Volumina der pulsierenden Vakuolen und ihre Tätigkeit wird allmählich langsamer. Dann fängt das Plasma von der Zelloberfläche (unter der Pellicula) an zu koagulieren; dabei werden die Paramaecien sehr unruhig und ihre Bewegungen unregelmässig. Zu dieser Zeit ist die Koagulation des Plasmas schon so weit vorgeschritten, dass der Makronukleus kaum zu sehen ist. Letzterer ist dabei blasser geworden, und man kann ihn leicht vom Plasma unterscheiden; stets ist in diesem Moment in ihm die Brownsche Bewegung zu bemerken. In vielen Fällen stehen die Paramaecien erst jetzt still, indem das Plasma platzt. Nach dem Erstarren des Plasmas werden auf der Zelloberfläche tropfenförmige flüssige Phasen, in denen man die Brownsche Bewegung der Kolloidteilchen gut wahrnehmen kann, aus dem Koagulum ausgeschieden; auch löst sich dabei koaguliertes Plasma von der klaren und ungeronnenen Pellicula ab. Die Tätigkeit der Zilien — besonders beim Cytostom — setzt sich noch dann fort, wenn das erstarrte Plasma schon zu zerfließen beginnt. Auf dem Wärmetische bei höheren Temperaturen verläuft die Koagulation in NH₄OH-Lösung viel schneller und unterscheidet sich vom oben beschriebenen Verlauf noch dadurch, dass der Makronukleus hier verhältnismässig früher erstarrt.

In KOH-Lösung verläuft die Koagulation des Paramaecienplasmas bei Zimmertemperatur fast ganz analog derjenigen in NH₄OH-Lösung. Nur in einigen Details ist sie etwas verschieden. So z. B. ist das Anschwellen und die Dilatation der pulsie-

renden Vakuolen hier bedeutend grösser als in NH_4OH -Lösung. Manchmal kann man in KOH -Lösung — ähnlich wie bei der Koagulation in hypertonen Salzlösungen — einige krampfartige „Zuckungen“ oder Einsturzbildungen wahrnehmen. Bemerkenswert ist, dass die pulsierenden Vakuolen hier sehr lange Zeit, manchmal bis zum Platzen der Zelle, tätig sind, obgleich die Pulsation sehr langsam vor sich geht. Bei höheren Temperaturen geht die Koagulation viel schneller vor sich, und man kann hier fast alle Einzelheiten — ebenso wie bei Zimmertemperatur — feststellen.

In NH_2CH_3 -Lösung unterscheidet sich die Koagulation von derjenigen in den obenerwähnten Basen nur dadurch, dass das Plasma und der Makronukleus fast gleichzeitig erstarren. Ähnlich wie in KOH -Lösung, kann man auch hier bei der Koagulation im Plasma Einsturzbildungen wahrnehmen.

Zusammenfassend können wir sagen, dass die Plasmakoagulation in den obenerwähnten Alkalilösungen von der Zelloberfläche anfängt und zentripetal weiterschreitet. Die Tätigkeit der pulsierenden Vakuolen dauert fast bis zum Tode und bis zum Platzen des Plasmas fort. Die Zilien schlagen eine verhältnismässig lange Zeit postmortal autonom weiter.

Was die Koagulationsstufen anbetrifft, so ist es hier unmöglich, analog der Hitzeagulation, vier Stufen zu unterscheiden, weil viele Merkmale, wie z. B. die charakteristischen Bewegungen der Tiere (und auch die Pulsationstätigkeit der Vakuolen), hier ganz anders sind, als bei der Hitzeagulation in der Kulturlösung.

Die Plasmakoagulation in Säurelösungen.

In Salz-, Schwefel-, Wein- und Zitronensäurelösungen ist der Verlauf der Koagulation demjenigen bei Zimmertemperatur in den Hauptzügen sehr analog, unterscheidet sich aber bedeutend von der Hitzeagulation in Kulturlösungen und von der Koagulation in Laugen.

Zunächst kann man beobachten, dass nicht nur die Geschwindigkeit der Koagulation, sondern auch manche andere Koagulationserscheinungen von der Säurekonzentration abhängig sind. So z. B. bleibt das Plasma in höheren Säurekonzentrationen auch dann noch ungeronnen und ganz durchsichtig, wenn der Makronukleus schon erstarrt und die Tierzelle abgestorben ist. Auch platzen die Tierzellen in höheren Säurekonzentrationen verhält-

nismässig sehr früh, manchmal schon bevor die pulsierenden Vakuolen ihre Tätigkeit eingestellt haben.

Ein typischer Verlauf der Koagulation des Paramaecienplasmas in Säurelösungen (1 Vol. Kulturlösung + 1 Vol. 0,005 n. HCl) ist etwa folgender: Die Tiere sind anfangs unruhig, dann aber werden ihre Bewegungen immer langsamer, bis sie ganz zum Stillstand kommen. Ihre Körper schwellen an (in organischen Säuren weniger als in anorganischen). Die Tätigkeit der pulsierenden Vakuolen wird immer langsamer, bis sie beim Erstarren des Makronukleus ganz aufhört. Es wurden folgende Frequenzzeiten notiert: 20" → 25" → 31" → 40" → 62" → ∞.

Der Makronukleus fängt gewöhnlich früher an zu erstarren als das Plasma. Man kann im einzelnen gut beobachten, wie die bläuliche flüssige Konsistenz des Makronukleus allmählich blasser wird, wie ihre Grenzen sich immer deutlicher von dem klaren Plasma abheben und wie dann die Kolloidteilchen und Granulas in ihm eine lebhaft Brownsche Bewegung zeigen. Wenn diese Bewegung aufhört, ist der Makronukleus schon ganz erstarrt. Der Mikronukleus ist aber dabei noch durchsichtig und normal. In jener Zeit, wo die Brownsche Bewegung im Makronukleus noch zu sehen ist, beginnt auch das Cytoplasma von der Oberfläche — unter der Pellicula — an zu koagulieren. Das Koagulum der äussersten Schichten ist sehr feinkörnig und nur ultramikroskopisch bei $K 20 \times 58$ zu sehen, die Kolloidteilchen liegen sehr dicht nebeneinander; im inneren Teile bleibt das Plasma aber flüssig und durchsichtig. Nur in anorganischen Säurelösungen konnte ich manchmal auch im Plasma bei der Koagulation einzelne Einsturzbildungen wahrnehmen. Die Pellicula ist zur Zeit der Koagulation des Cytoplasmas noch durchsichtig und ungeronnen. Später kommen in der Pellicula radiale Striche zum Vorschein, und dann geht sie in feinkörniges Koagulum über. Nach der Koagulation der Pellicula platzen die Paramaecienzellen. Dabei scheiden sich aus dem Koagulum flüssige Phasen tropfenweise aus. Manchmal löst sich das koagulierte Plasma von der Pellicula ab. Solange die Pellicula noch ungeronnen ist, schlagen die Zilien regelmässig und kräftig; nach dem Erstarren der Pellicula werden aber ihre Schläge immer schwächer, eine kurze Zeit sind bei ihnen noch schwache wellenartige Bewegungen bemerkbar, dann aber werden die Zilien still und fallen leicht von der koagulierten Pellicula ab.

Auf dem Wärmetische — bei höheren Temperaturen — geht die Plasmakoagulation in den Einzelheiten analog der obenbeschriebenen vor sich, verläuft aber viel schneller.

Zusammenfassend kann man sagen, dass die Koagulation des Paramaecienplasmas in Säurelösungen zentrifugal verläuft: zuerst beginnt der Makronukleus zu koagulieren, dann erstarrt das Cytoplasma, weiter die Pellicula und zuletzt das Zilienplasma.

Die Koagulation in $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$.

In 10% Alkohol koaguliert das Plasma der Paramaecienzellen bei Zimmertemperatur fast momentan. Dabei löst sich das koagulierte Plasma von der Pellicula ab und zieht sich stark zusammen. In 5% Alkohol verläuft die Koagulation langsamer, und man kann hier die Einzelheiten dieses Prozesses näher verfolgen.

I. Die Bewegungen der Paramaecien sind anfangs sehr lebhaft, werden dann aber nach kurzer Zeit langsamer und gehen in Rotation um die Längsachse über. Der Tierkörper schwillt bedeutend an. Das Plasma und der Makronukleus sind durchsichtig und normal, man kann aber im Plasma sehr lebhaft Strömungen wahrnehmen.

II. Eine sehr dünne obere Schicht des Plasmas unter der Pellicula nimmt eine feingranulöse Struktur an. Die Pulsation der Vakuolen wird dabei immer langsamer, während die Volumina der Vakuolen grösser werden. Das innere Plasma ebenso wie der Makronukleus sind von normalem Aussehen.

III. Der Makronukleus wird granulös, und man kann ihn deutlich vom Cytoplasma unterscheiden. Das Cytoplasma fängt von den Polen an zu koagulieren. Die Pulsation der Vakuolen hat aufgehört.

IV. Der Makronukleus ist erstarrt. Auch das Plasma ist kaum noch durchsichtig, denn es geht jetzt sehr rasch in Erstarrung über. Die Zilien schlagen noch eine kurze Zeit weiter, bis die Zelle platzt.

Aus dieser Beschreibung kann man schliessen, dass die Koagulation des Paramaecienplasmas in alkoholischer Lösung sehr ähnlich der Hitzekoagulation in der Kulturlösung verläuft.

Die Koagulation in Tanninlösung.

Eigenartig verläuft die Koagulation des Paramaecienplasmas in eiweissfällender Tanninlösung.

In 0,05 % Tanninlösung werden die Paramaecien fast momentan bewegungslos; ihre Körper schwellen sehr bedeutend an, die Pulsation der Vakuolen hört auf, die pulsierenden Vakuolen selber nehmen eine abnorme Grösse an (siehe Fig. 10). Von den Zilien schlagen nur diejenigen, die sich in der Umgebung der Cytopharinx befinden, noch eine kurze Zeit weiter. Da die Oberschicht des Plasmas sehr dicht und undurchsichtig geworden ist, so ist man nicht imstande das Innere der Zelle zu sehen.

Aus dem erstarrten Plasma scheidet sich eine flüssige Phase

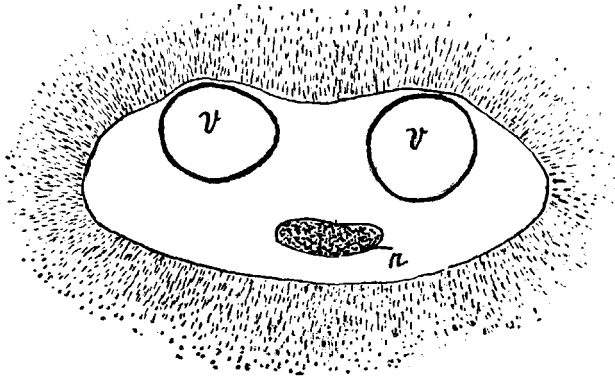


Fig. 10.

aus, welche vom Tannin in sehr feinen Nadeln, die nur ultramikroskopisch sichtbar sind, ausgefällt wird. Von diesen feinen nadelförmigen Gebilden, auf denen man noch kleine Körnchen wahrnehmen kann, werden die Tierzellen wolkenartig umhüllt. Nach einer halben Stunde sammelt sich an der Oberfläche der Flüssigkeit (= Paramaecienkultur + Tannin) eine dünne elastische Schicht, während die Lösung selbst eine gelbliche und opaleszierende Farbe annimmt.

In 0,005 % Tanninlösung geht die Plasmakoagulation viel langsamer vor sich, und hier kann man auch die Einzelheiten der Koagulation besser verfolgen.

I. Die Bewegungen der Paramaecien verlangsamen sich, während die Tierzellen schwach anschwellen. Die Frequenzzeiten

der pulsierenden Vakuolen werden immer länger. Die Zilienschläge sind noch verhältnismässig kräftig.

II. Die Paramaecien sind schon unbeweglich, die Zilienschläge aber noch ziemlich lebhaft, die Zellen bedeutend angeschwollen. Die Tätigkeit der pulsierenden Vakuolen ist viel schwächer geworden. So wurde bei 20° C eine Frequenzzeit der kaudalen Vakuole von 139 Sekunden notiert (die norm. Pulsationsfrequenz ist 12"—13"!), während die präorale Vakuole ihre Pulsation schon eingestellt hatte. Man kann hier direkt beobachten, wie das Plasma an seiner Oberfläche immer zäher wird, so dass das Platzen über den pulsierenden Vakuolen allmählich immer schwerer vor sich geht. In den Ampullen aber sammelt sich die Flüssigkeit, die mit grosser Schwierigkeit in die Vakuole eingepresst wird. Dabei geschieht die Kontraktion der einzelnen Ampullen nicht mehr regelmässig und gleichzeitig. Die pulsierenden Vakuolen haben sich deutlich vergrössert. Der Makronukleus ist kaum noch durch das dichte Plasma zu sehen; doch konnte man manchmal wahrnehmen, dass er + granulös geworden war und dass die Körnchen eine Brownsche Bewegung zeigten.

III. Die Tiere sind unbeweglich, die Zilien schlagen sehr schwach, die Pulsation der Vakuolen hat aufgehört, die pulsierenden Vakuolen selber sind stark angeschwollen. Um die Cytopharynx schlagen die Zilien noch manchmal verhältnismässig kräftig, aber die Bildung der Nährvakuole findet nicht mehr statt. Rings um die Tierzellen hat sich aus feinsten Nadeln ein Niederschlagswölkchen gebildet.

IV. Das Plasma sowie der Makronukleus sind erstarrt. Die Paramaecienzellen sind tot.

Wenn man dagegen die Paramaecienpraeparate in 0,005 % Tanninlösung auf einen Wärmetisch von 46—47° C legt, dann koagulieren der Makro- und Mikronukleus der Zelle sehr rasch, das Plasma aber bleibt durchsichtig und nur eine sehr dünne Oberschicht des Plasmas zeigt ultramikroskopisch ein sehr feinkörniges Koagulum. Erst später wird das ganze Plasma trübe und koaguliert zuletzt. In 0,0005 % Tanninlösung bleiben die Paramaecien 12 und mehr Stunden am Leben. Wie die 0,0005 % Tanninlösung die Hitze-koagulation des Plasmas beeinflusst, kann man aus Tabelle 7 ersehen.

Aus der Tabelle 7 und der Fig. 11 können wir ersehen, dass das Paramaecienplasma in 0,0005 % Tanninlösung viel langsamer erstarrt als in der Kulturlösung. Die Hemmung der Hitze-

Tabelle 7.

| | 44° C | 42° | 40° | 38° |
|------------------------------------|-------|------|-------|--------|
| In 0,0005 % Tanninlösung | 9'' | 66'' | 428'' | 2445'' |
| In der Kulturlösung | 8,8'' | 32'' | 275'' | 1250'' |

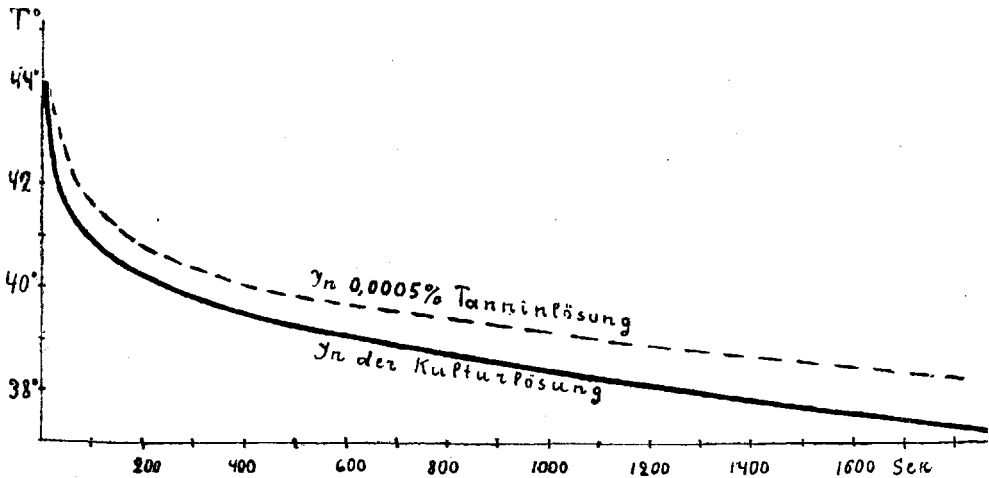


Fig. 11. Die Plasmakoagulation in der Kulturlöslichkeit und in 0,0005 % Tanninlösung.

koagulation des Plasmas kann vielleicht dadurch erklärt werden, dass die Plasmaoberfläche, wie die ultramikroskopischen Untersuchungen uns gezeigt haben, vom Tannin verdichtet und das Eindringen des Wassers und der Salze in das Plasma dadurch zurückgehalten wird. Im Zusammenhang mit dieser Erscheinung muss die hydrolytische Spaltung der Plasmakomponenten — resp. die Zersetzung und die Koagulation des Plasmas — ebenfalls herabgesetzt werden. Der Tod der Zellen wird erst später dadurch verursacht, dass die giftigen Abbauprodukte nach dem Aufhören der Pulsation der Vakuolen nicht mehr aus dem Plasma entfernt werden können.

Die Plasmakoagulation in hypertonen Neutralsalzlösungen.

Schon in den isotonischen 0,075—0,08 n. Neutralsalzlösungen sterben die Paramaecien bei Zimmertemperatur ab. In hypertonen Salzlösungen verläuft die Koagulation aber viel schneller,

sindem mit dem Steigen der Salzkonzentration auch die Geschwindigkeit der Plasmakoagulation wächst. So erfolgt z. B. die Koagulation des Paramaecienplasmas bei Zimmertemperatur:

| | |
|---|-------------------|
| In 0,075 norm. Li NO ₃ -Lösung (isot. Konz.) | in 75—90 Minuten. |
| „ 0,1 „ „ | „ 18—21 „ |
| „ 0,1 mol. „ | „ 6—7 „ |
| „ 0,1 norm. Na ₂ SO ₄ - „ | „ 25—30 „ |
| „ 0,1 mol. „ „ | „ 4—5 „ |

In 0,1 norm. Salzlösungen waren die Koagulationszeiten des Paramaecienplasmas bei 19° C in Minuten:

| | |
|---|---|
| NH ₄ CNS — 3—5 | SrCl ₂ — 15—17 |
| KCNS — 3—5 | LiCl — 20—25 |
| NaBr — 3—4 | NaCl — 22—25 |
| BaCl ₂ — 5—7 | Na ₂ SO ₄ — 25—30 |
| NH ₄ NO ₃ — 7—10 | MgSO ₄ — 25—30 |
| RbCl — 10—12 | KCl — 28—32 |
| (NH ₄) ₂ SO ₄ — 12—25 | LiNO ₃ — 29—35 |
| Mg(NO ₃) ₂ — 15—17 | CaCl ₂ — 30—40. |

Daraus ersieht man, dass die Koagulation am schnellsten in NH₄CNS, KCNS, NaBr und BaCl₂, am langsamsten aber in LiNO₃ und CaCl₂ zustande kommt. So kann man auch hier sehen, dass ebenso, wie bei der Wirkung der Neutralsalze auf die Hitze-koagulation, die Koagulationsgeschwindigkeit des Plasmas im allgemeinen nach der lyotropen Reihe der Anionen (bei NH₄-, Na-, K-, Mg-Salzen) beeinflusst wird. Doch kommen bei einigen Salzen bedeutende Verschiedenheiten in der Geschwindigkeit der Hitze-koagulation bei Zimmer- und erhöhter Temperatur vor, je nachdem wir es mit hypotonischen oder hypertotonischen Flüssigkeiten zu tun haben. So z. B. kommt die Hitze-koagulation des Plasmas bei 38° in 0,05 n. Lösungen von NH₄CNS in 57,5 Sek. und in solchen von KCNS — in 425 Sek. zustande, in 0,1 norm. Lösungen der beiden Salze bei 19° aber in 3—5 Minuten. Dagegen geschieht die Koagulation in 0,05 n. SrCl₂ und CaCl₂-Lösungen bei 38° fast gleich schnell (in 1015 und 1020 Sek.), bei 19° aber in ganz verschiedenen Zeiten (15—17 M. und 30—40 M.!).

Aus diesen Abweichungen kann man vielleicht schliessen, dass die erwähnten Salze bei verschiedenen Temperaturen verschieden auf das Paramaecienplasma wirken und deshalb auch

selber mit ungleichmässiger Geschwindigkeit in das Plasma einzudringen vermögen.

Durch das Licht wird die Wirkung der Neutralsalze auf die Plasmakoagulation stark beschleunigt. Man kann direkt unter dem Mikroskope beobachten, wie die Tiere, die bei ultramikroskopischen Betrachtungen auf dunklem Felde in der hellen Mitte des Gesichtsfeldes gehalten werden, sehr unruhig werden und bedeutend schneller absterben als die anderen, die sich weit von dem hellen Mittelpunkte befinden. So z. B. koaguliert das Plasma in 0,1 norm. $MgSO_4$ -Lösung auf dunklem Felde binnen 25—30 Min.; wird das Tier aber 3 Min. lang im Mittelpunkte des Gesichtsfeldes gehalten und dann weiter auf dunklem Felde betrachtet, so koaguliert das Plasma schon nach 15—18 Minuten.

In hypertonischen Salzlösungen bleibt das Anschwellen der Paramaecienzellen aus, da in diesen Salzkonzentrationen eine „Plasmolyse“ zustande kommt. Die Plasmolyse in Paramaecienzellen ist aber nicht ähnlich derjenigen, welche man gewöhnlich in Pflanzenzellen beobachtet, wo das Plasma sich von der Zellwand ablöst. Hier, bei den Paramaecienzellen, schrumpft der Tierkörper ein und nimmt die Form einer Schraube an.

Das Plasma der konjugierenden und in Teilung begriffenen Paramaecien ist gegen die Salzwirkung viel resistenter, als dasjenige der gewöhnlichen Paramaecien. So koagulierte das Plasma in 0,1 n. $RbCl$ -Lösung bei $19,5^\circ$ nach 10—12 Min., das der in Teilung begriffenen Tiere aber erst nach 23 Min. Die konjugierenden Paramaecien blieben in 0,1 norm. $CaCl_2$ -Lösung bis 60 Min. am Leben, während die normalen Tiere schon nach 30—40 Min. abstarben.

Die Bewegungen der Paramaecien in 0,1 n. Salzlösungen sind ebenfalls verschieden. In Rhodaniden, KCl und $RbCl$ waren die Tiere sehr unruhig und bewegten sich meistens rückwärts; in anderen Salzlösungen wurden sie unruhig nur kurz vor dem Beginn der Koagulation. Nur in Sulfaten bewegten sich die Tiere auch dann noch eine Zeitlang langsam fort, wenn das Plasma schon merklich erstarrt war.

Der Verlauf der Koagulation in 0,1 n. Salzlösungen bei $19—20^\circ C$.

In allen Neutralsalzlösungen fängt das Paramaecienplasma von der Zelloberfläche an zu koagulieren. Die Koagulation

schreitet zentripetal fort. Das Erstarren des Plasmas geht vor sich am schnellsten in Rhodaniden, am langsamsten — in Sulfaten. In einigen Fällen konnte ich parallel mit der Oberflächen-erstarrung eine verhältnismässig schwächere Trübung im Inneren des Plasmas an den Grenzen der Nährvakuolen wahrnehmen (MgSO_4 und $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$). Der Makronukleus ist beim Erstarren der Oberschichten des Plasmas ganz normal, er beginnt erst später zu koagulieren. In NH_4NO_3 -, MgSO_4 -, RbCl - und CaCl_2 -Lösungen verändert sich anfangs nur der Farbton des Makronukleus; er wird nämlich etwas blasser, dann wird das Karyoplasma granulös und erstarrt zuletzt.

Sehr eigenartig sind bei der Koagulation des Paramaecienplasmas in 0,1 n. Salzlösungen die „Zuckungen“ oder besser Einsturzbildungen. Man sieht im Plasma, das schon trübe ist, plötzliche Einsenkungen, Einfälle oder Zusammenziehungen. Das Plasma zuckt! Sind diese Erscheinungen kräftig genug, dann beginnt das Plasma zu zittern. Die Einsenkungen im Plasma folgen sehr schnell aufeinander, und man kann nicht ganz genau wahrnehmen, ob ihnen auch Aufblasungen vorangehen. Bei sehr kräftigen Plasmaeinstürzen knickt die Zelle und biegt sich nach der Seite hin, auf welche die Einsturzbildungen übergegangen waren. Die an einer Stelle aufgetauchten Einsenkungen schreiten manchmal von diesem Punkte (z. B. von einem Pol) allmählich weiter. Wo sie schon vor sich gegangen sind, hat sich ein körniges Koagulum gebildet; dabei hat der Tierkörper sich zusammengezogen. Sind die Einstürze des Plasmas kräftig, dann wird das Koagulum grobkörnig (in Rhodaniden und $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ -L.) bei schwachen Einsturzbildungen aber wird es feinkörnig. Nur in Li-Salzlösungen (LiNO_3 und LiCl) konnte ich die obenerwähnten Erscheinungen nicht wahrnehmen. Vielleicht sind sie hier zu schwach, weshalb man sie schwer bemerken kann. Jedenfalls ist das Koagulum bei diesen Salzen sehr feinkörnig.

Die Tätigkeit der pulsierenden Vakuolen wird in hypertonen Salzlösungen allmählich langsamer; sie hört aber nicht mit dem Anfang der Koagulation der Plasmaoberschichten auf, wie bei der Hitzekoagulation, sondern schreitet eine Weile fort. So wurden z. B. folgende Frequenzzeiten in 0,1 n. Salzlösungen bei 19° C ermittelt: $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ — 25" → 35" → 65" || (Anfang der Plasmakoagulation) → 85" → 120" → ∞; CaCl_2 — 23" → 45" → 74" → 95" || → 135" → 177" ∞.

In manchen Fällen wird die Pulsation der Vakuolen kurz vor der Plasmakoagulation, wenn die Tiere unruhig werden, schneller, so z. B. in 0,1 n. Na_2SO_4 -Lösung: 26" → 7,5", 8" || → 25" → → 63" → 83" → ∞.

In einigen Salzlösungen (KCl , NaCl , LiNO_3 , $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$, BaCl_2) konnte man beobachten, dass nach dem Aufhören der Pulsation der Vakuolen noch eine Menge Flüssigkeit sich in den Vakuolen sammelt, so dass das Plasma über ihnen emporgehoben wird. Manchmal bilden sich neben den stehengebliebenen Vakuolen noch neue Vakuolen.

Nach dem Erstarren des Plasmas und nach dem Tode der Paramaecien schlagen die Zilien noch eine kurze Zeit (5"—10") autonom fort. Diese Zeit ist aber viel kürzer als bei der Hitze-koagulation in gewöhnlicher Kulturflüssigkeit.

Daraus kann man schliessen, dass die Salze nicht nur auf das Körperplasma, sondern auch auf das Zilienplasma wirken und es schneller zur Koagulation bringen.

Was die Stufen der Koagulation anbetrifft, so ist es schwer, die ersten zwei Stufen — analog denjenigen bei der Hitze-koagulation — voneinander zu trennen, weil das Anschwellen der Zellen ebenso wie die Eigentümlichkeiten der Bewegungen der Tiere in den hypertonen Neutralsalzlösungen bei Zimmertemperatur ausbleiben. Auch setzt sich die Tätigkeit der pulsierenden Vakuolen hier noch eine gewisse Zeit nach dem Anfang des Erstarrens der Plasmaober-schicht fort. Und da weiter das Koagulum des Plasmas meistens sehr grobkörnig ausfällt, ist es kaum möglich die Einzelheiten bei der Koagulation des Makronukleus zu verfolgen.

Im ganzen lassen sich bei der Koagulation des Paramaecienplasmas in hypertonen Neutralsalzlösungen nur folgende drei Stufen unterscheiden: a) Erste Stufe: die Tierzellen sind plasmolysiert, eingeschrumpft, die Bewegungen unruhig; die Pulsation der Vakuolen wird langsamer; das Plasma ist normal, durchsichtig; die Zilien schlagen kräftig. b) Zweite Stufe: das Plasma fängt von der Oberfläche an zu koagulieren; die Pulsation der Vakuolen ist sehr verlangsamt und hört zuletzt ganz auf; der Makronukleus ist normal. c) Dritte Stufe: das Plasma erstarrt unter lokalen Einsturzbildungen; der Makronukleus ist kaum zu sehen — er ist ebenfalls erstarrt. Das Tier ist tot. Die Zilien schlagen nur eine sehr kurze Zeit autonom weiter.

So haben die ultramikroskopischen Untersuchungen uns gezeigt, dass die Koagulation des Paramaecienplasmas in verschiedenen Lösungen morphologisch sehr verschieden verläuft und sich von der Hitzekoagulation bedeutend unterscheidet. Nur in 5% Alkohol ist die Plasmakoagulation der Hitzekoagulation verhältnismässig ähnlich. In Säure- und Alkalilösungen verläuft die Koagulation in entgegengesetzten Richtungen: in ersteren — zentrifugal, in letzteren — zentripetal. Die Koagulation des Plasmas in Tanninlösung wird besonders charakterisiert durch das sehr frühzeitige Aufhören der Pulsation der Vakuolen und durch die bedeutende Verdichtung der Plasmaoberfläche, diejenige in hypertonen Neutralsalzlösungen aber durch die Verlangsamung der Pulsation und durch die Erstarrung des Plasmas unter eigenartigen Einsturzerscheinungen.

Diese Untersuchungen, bei denen man den Gang der Koagulation direkt verfolgen kann, haben uns manche Dienste geleistet und sind eine wertvolle Stütze bei der Erklärung der Wirkung der verschiedenen chemischen Agentien auf die Plasmakoagulation.

Kurze Zusammenfassung.

Es hat sich gezeigt, dass in den Bakterienkulturlösungen eine reine Rasse von *Paramaecium caudatum* zwischen pH 6,8—8,4, am besten aber bei pH 7,7 leben kann. Das Paramaecienplasma ist dabei am resistentesten gegen die Hitze bei pH 7,7. Durch Hinzufügung von Alkalien, resp. durch Erhöhung der OH⁻-Ionenkonzentration über pH 7,7, wird die Geschwindigkeit der Hitzekoagulation des Plasmas gefördert; durch Neutralisation der Kulturlösung mit verschiedenen Säuren, resp. durch Verminderung der OH⁻-Ionenkonzentration, wird die Plasmakoagulation bei Temperaturen unter 40° C beschleunigt, bei höheren aber herabgesetzt. Das Plasma zentrifugierter und mit destilliertem Wasser ausgewaschener Paramaecien ist bei Temperaturen unter 40° bedeutend weniger resistent gegen die Hitze, als dasjenige der normalen Tiere.

Neutralsalze, die schnell ins Plasma eindringen können (NH₄-Salze, Rhodanide, BaCl₂ und Mg(NO₃)₂), erhöhen die Geschwindigkeit der Hitzekoagulation des Paramaecienplasmas bei konstanten Temperaturen. Die anderen Neutralsalze, die verhältnismässig langsam durch das Plasma permeieren, hemmen bei Temperaturen über 40° C die Hitzekoagulationsgeschwindigkeit des Plasmas, bei niedrigeren

aber wirken sie auf die Plasmakoagulation beschleunigend. Die Geschwindigkeit der Hitzekoagulation wird durch die Neutralsalze nach der lyotropen Reihe der Anionen: $\text{CNS} > \text{NO}_3 > \text{Cl} > \text{SO}_4$ gefördert (eine Ausnahme bilden die Li-Salze), so dass hier eine Analogie in der Wirkung der Neutralsalze auf die Hitzekoagulation des tierischen und pflanzlichen Plasmas zu konstatieren ist.

Bei der Hitzekoagulation des Paramaecienplasmas kann man vier Stufen unterscheiden. Diese Stufen folgen bei höheren Temperaturen schneller aufeinander als bei niederen. Auf den zwei ersten Stufen ist die Koagulation des Plasmas reversibel. Das Plasma der konjugierenden und der in Teilung begriffenen Tiere ist viel resistenter gegen die Hitze, als dasjenige der normalen Tiere.

Mit dem Steigen der Temperatur wird die Tätigkeit der pulsierenden Vakuolen beschleunigt; diese Beschleunigung steigt aber nicht gleichmässig, sondern wird bei höheren Temperaturen kleiner. Vor der Koagulation des Plasmas, resp. mit dem Steigen der Viskosität der Plasmaoberfläche, wird die Pulsation der Vakuolen langsamer und hört endlich auf. In 1—1,5% Gelatinelösung ist die Pulsationstätigkeit der Vakuolen bei Temperaturen unter 20° lebhafter, bei solchen über 20° aber langsamer als in der Kulturlösung. Bei höheren Temperaturen (über 35°), wo die Permeabilität des Plasmas steigt, dringt das Wasser aus der Umgebung in grösseren Mengen in die Paramaecienzellen ein, so dass sie anschwellen und eine Spindelform annehmen. Bei den konjugierenden Paramaecien pulsieren die präoralen Vakuolen langsamer, als die kaudalen (bei den normalen Tieren ist das umgekehrt!). Das Paramaecienplasma ist viel weniger resistent gegen die Hitze, als das Plasma der anderen Wassertiere (Froschmuskeln) oder Wasserpflanzen (*Spirogyra*).

Die ultramikroskopischen Untersuchungen haben gezeigt, dass die Koagulation des Paramaecienplasmas, die durch die verschiedenen chemischen Agentien bei Zimmertemperatur hervorgerufen wird, sich bedeutend von der Hitzekoagulation unterscheidet. So verläuft die Koagulation in Alkali- und Säurelösungen in entgegengesetzter Richtung: in ersteren — zentripetal, in letzteren — zentrifugal, wobei man nicht mehr vier Koagulationsstufen — analog der Hitzekoagulation — unterscheiden kann. In hypertonischen Neutralsalzlösungen wächst die Koagulationsgeschwindigkeit des Paramaecienplasmas

mit dem Steigen der Salzkonzentration; ebenso wird sie durch das Licht beschleunigt. Die Plasmakoagulation fängt hier von der Zelloberfläche an und schreitet zentripetal fort; dabei entstehen im Plasma lokale Einsturzbildungen, von welchen die Körnchengrösse des Koagulums abhängt. Die Pulsation der Vakuolen wird immer langsamer und kommt nur kurz vor dem Zellentode zum Stillstand. Bei der Koagulation des Plasmas kann man hier nur drei Stufen unterscheiden.

In 5% Alkohol ist der Gang der Koagulation in den Hauptzügen demjenigen der Hitzekoagulation sehr ähnlich.

Eigenartig verläuft die Koagulation des Paramaecienplasmas in Tanninlösung. Da hier die Oberschicht des Plasmas durch das Tannin verdichtet wird, hört die Pulsation der Vakuolen sehr früh auf, während die pulsierenden Vakuolen sich ausserordentlich vergrössern. Auch sinkt die Hitzekoagulationsgeschwindigkeit des Plasmas in 0,0005% Tanninlösung sehr stark.

Literatur.

- Addoms, R. M. *Americ. Journ. of Botany* **14**, 147, 1927.
- Baglioni, S. *Wintersteins Handb. d. vergl. Phys.* **4**, 1913.
- Barrat, J. O. *Pflüg. Arch.* **5**, 10, 1905. *Zeitschr. f. allg. Phys.* **4**, 438, 1904; **5**, 10, 1905.
- Biedermann, W. *Wintersteins Handbuch etc.* **2**. I. H. Infusoria 319—333. 1911.
- Bois-Reymond, R. du. *Winterst. Handb.* **3**. T. I. 1914.
- Buglia, G. *Zeitschr. f. Chem. u. Ind. d. Koll.* **5**, 291, 1909.
- Burian, R. *Winterst. Handb.* **2**. II. H. 262. 1924.
- Cholodnyj, N. *Beih. z. Bot. Zentr.* **39**, 1923. Über den Einfluss der Metallionen etc. (russisch). 1918.
- Danilewsky. *Arch. f. Anat. u. Phys.* 1906, 413.
- Degen. *Bot. Ztg.* **63**, 163, 1905.
- Doflein, F. *Lehrbuch der Protozoenkunde.* 1909.
- Eisenberg, E. *Arch. de biol.* **35**, 1926.
- Fischer, M. H. „Ödem“ (russisch). 1913. *Seifen u. Eiweissstoffe.* Dresden. 1922.
- Fitting, H. *Jahrb. f. wiss. Bot.* **54**, 1, 1915.
- Gellhorn, E. *Protoplasma* **1**, 589, 1927.
- Hansteen-Cranner. *Jahrb. f. wiss. Bot.* **53**, 536, 1913.
- Heilbronn, A. *Jahrb. f. wiss. Bot.* **54**, 357, 1914.
- Heilbrunn, L. W. *The heat coagulation of protoplasm.* 1924. *The colloid chemistry of protopl.* III and IV. 1924. *The use of temper. coeff. in the interpret. of biol. proc.* 1925.
- Jennings, N. S. *Zool. Anz.* **27**, 1904. *Verhalten der niederen Organismen.* Leipz. 1910.
- Jensen, P. *Pfl. Arch.* **62**, 172, 1895; **87**, 361, 1901.
- Kaho, H. *Bioch. Zeitschr.* **117**, 87, 1921; **120**, 125, 1921; **123**, 284, 1921; **144**, 104, 1924; **151**, 140, 1924; **167**, 182, 1926. *Acta et Comm. Univ. Dorp. A II* 4, 1921 (estnisch); *A V* 4, 1924.
- Kanitz, A. *Biol. Centralbl.* **27**, 1907.
- Kestner und Plaut. *Winterst. Handbuch etc.* **2**. II. H. 1924.
- Korentschawsky, W. *Arch. f. exp. Path. u. Pharm.* **49**, 1904.
- Küster, E. *Anleitung zur Kultur der Mikroorganismen.* Leipzig. 1921.
- Lang, A. *Lehrbuch der Anatomie der wirbellosen Tiere.* 2. Aufl. 1901.
- Lepeschkin, W. W. *Berichte d. Deutsch. Bot. Ges.* **28**, 1910; **29**, 1911; **30**, 528, 1912. *The constancy of the living substance.* Prague. 1923. *Kolloidchemie des Protoplasmas.* Berlin. 1924.
- Loeb, J. *Pfl. Arch.* **73**, 422, 1898. *Die Eiweisskörper.* Berlin. 1924.

- Mas'sart, J. Arch. de Biol. **2**, 515, 1889.
Maupas. Arch. zool. expér. **1**, 1883; **2**, 1884.
Nierenstein, E. Zeitschr. f. allg. Physiol. **5**, 1905.
Ogata, E. Centralbl. f. Bakt. **36**. Referate.
Osterhout, W. J. W. Bot. Gaz. **42**, 127, 1906; **44**, 259, 1907.
Pauli, W. Beitr. z. chem. Phys. u. Path. **3**, 225, 1902; **5**, 27, 1903; **7**, 531, 1905. Pfl. Arch. **136**, 483, 1910. Kolloidchemie der Eiweisskörper. Dresden. 1920.
Pauli u. Handowsky. Bioch. Zeitschr. **18**, 340, 1909; **24**, 239, 1910.
Pfeifer, U. Protoplasma **1**, 434, 1926.
Porges A. u. Neubauer, E. Bioch. Zeitschr. **7**, 153, 1907.
Porodko. Berichte d. Deutsch. Bot. Ges. **44**, 1926.
Port, J. Bioch. Zeitschr. **166**, 105, 1925; **170**, 377, 1926. Protoplasma **1**, 566, 1927. **2**, 401, 1927.
Pütter, A. Ergebn. der Phys. **2**, 243, 1903. Zeitschr. f. allg. Phys. **5**, 1905; **7**, 1907. Abhandl. d. k. Ges. d. Wiss. zu Gött., math.-phys. Kl. N. F. **6**, 1, 1908. Tigerstedt, Handb. der phys. Meth. 1911.
Ruhland, W. Arch. f. wiss. Bot. **1**, 1, 1925.
Ruhland u. Hoffmann. Ber. d. Sächs. Akad. etc. **76**, 47, 1924.
Seifritz, W. Ann. of Botany **37**, 1923.
Smits, D. De Wiss. Travaux bot. néerl. **23**, 1926.
Spek, J. Experimentelle Beitr. zur Kolloidch. der Zellt. Dresden. 1920. Acta Zool. 1921.
Stankewitsch, P. Zeitschr. f. allg. Phys. **5**, 1905.
Stempell, W. Arch. f. Protistenkunde **48**, 1924.
Stiles, W. Permeability. 1924.
Tröndle, A. Arch. des sciences phys. et nat. **45**, 38; **167**, 1918. Ber. d. Deutsch. Bot. Ges. **47**, 1919. Beih. z. Bot. Z. 1921.
Tsuji-tani. Centralbl. f. Bakt. **36**. Referate.
Walter, H. Jahrb. f. wiss. Bot. **62**, 145, 1923. Protopl.- und Membranquellung bei Plasmol. Leipzig. 1923.
Weber, Fr. Planta. Arch. f. wiss. Bot. **1**, 4, 553.
Zülzer, M. Sitz. d. Ges. d. Naturfreunde. 1907. S. 90.
-