

Rehwilde gesehen habe, hat mich in Erstaunen versetzt. Allerdings wirkt aber auch bei jenen Thieren, deren Schicksal es ist, geschossen oder gefressen zu werden, nach dieser Richtung hin eine ganz ausserordentlich energische natürliche Zuchtwahl, welche bei den Culturmenschen, die nur ausnahmsweise Verletzungen erliegen, fortfällt.

(Schluss folgt.)

X.

Biologische Studien mit Rücksicht auf die Pathologie.

Von Prof. O. Israel in Berlin¹⁾.

III.

Oligodynamische Erscheinungen (v. Nägeli) an pflanzlichen und thierischen Zellen.

Von O. Israel und Dr. Th. Klingmann aus Ann-Arbor (Michigan).

(Mit 14 Abbildungen im Text.)

Wie sich bei der Behandlung biologischer Fragen von jeher das Experiment als einen der fördersamsten Wege erwiesen hat und mit Recht in weitestem Umfange zur Aufklärung selbst verwickelter Probleme herangezogen wird, so muss doch bei den meisten Schlüssen, die bezüglich des regulären Verhaltens der Objecte aus ihm abgeleitet werden sollen, die an sich pathologische Natur artificieller Erscheinungen zu mancherlei Einschränkungen führen.

Um so näher liegt es, die vergleichend-experimentelle Methode der modernen Biologie für die allgemeine Pathologie zu verwerthen; gestattet sie doch, mit ihren Vorzügen, die in der

¹⁾ S. dieses Archiv. Bd. 141. S. 209 f.

Fülle des verschiedenartigsten Materials und nicht zum wenigsten in der Möglichkeit bestehen, die Erscheinungen gewissermaassen aus der Parallaxe zu betrachten, den pathologischen Prozessen direct nachzugehen.

Bei dem ausserordentlich grossen Umfange des Gebietes ist der einzelne meist nur im Stande, bescheidene Bausteine zu liefern, in der Hoffnung, dass Andere ergänzend und weiter vordringend eingreifen — an werthvollen Vorarbeiten und Erfahrungen, insbesondere seitens der Botaniker und Zoologen fehlt es nicht. Dabei darf es nicht abschrecken, dass die Möglichkeit, an die Grundfragen bezüglich des Zusammenhangs der organischen Formgestaltung mit der chemischen Bildung und Bindung der Bestandtheile mit Erfolg heranzutreten, wohl noch in einiger Ferne liegt. Bis die physikalisch-chemische Forschung dem Biologen auch für die Erklärung organischer Formen gesicherte Erfahrungen bieten kann, so lange ist selbst gegenüber den verlockendsten Nebeneinanderstellungen von molekular-physikalischen und morphologischen Beobachtungen grosse Vorsicht geboten. Was jedoch an positiven Wahrnehmungen neu und überraschend ist, das bedarf, gerade wenn es zum Theil jenen Grenzgebieten angehört, um so dringender unbefangener Prüfung und Klärung unter Ausschliessung jeglicher zu weit gehenden Speculation.

Von hervorragender Bedeutung dürften in dieser Hinsicht die Beobachtungen Carl v. Nägeli's sein, deren verdienstvolle Veröffentlichung aus dem Nachlasse des berühmten Biologen S. Schwendener zu danken ist. „Ueber die oligodynamischen Erscheinungen an lebenden Zellen“¹⁾ betitelt sich die umfangreiche, fast druckfertig hinterlassene Abhandlung, die auf Untersuchungen beruht, welche bis in den Anfang der 80er Jahre zurückgehen. Da die Kenntniss dieser Arbeit bisher über den Kreis der Botaniker wenig hinausgedrungen zu sein scheint, so sei hier zunächst eine kurze Wiedergabe ihres wesentlichsten Inhaltes gestattet.

Ausgehend von den Studien von Löw und Bokorny²⁾ über

¹⁾ Neue Denkschriften der allgemeinen schweizerischen Gesellsch. für die ges. Naturwissensch. Bd. XXXIII. Abth. 1.

²⁾ Ein chemischer Unterschied zwischen lebendigem und todtem Protoplasma. Pflüger's Archiv. Bd. XXV. S. 150 ff.

die Lebensursache des Protoplasma konnte Nägeli die von diesen Autoren ermittelten Reactionerscheinungen an Süßwasser-algen, unter denen die Spirogyren sich als die geeignetsten erwiesen, voll bestätigen, stellte bald aber auch fest, dass bei weiterer Verdünnung der angewandten alkalischen Lösung von salpetersaurem Silberoxyd (1 NAgO₃, 1 NH₃ und 3,6 K₂O in 100,000 Wasser) nicht die früher beobachteten Veränderungen langsamer und undeutlicher werden, sondern dass ganz andere Veränderungen eintreten, a. a. O. S. 7: „Wenn die Spirogyren durch die angegebene oder wenig verdünntere Lösung des Silbersalzes getötet werden, so nimmt das bewaffnete Auge die nämlichen morphologischen Erscheinungen wahr, wie wenn der Tod durch eine andere giftige Verbindung oder durch Hitze verursacht wird, oder wenn bei Zimmercultur aus noch unbekannten Ursachen die Zellen absterben und in Fäulniss übergehen. Der ganze Inhalt mit dem Plasmaschlauch zieht sich ein wenig von der Membran zurück; die Bänder, ohne ihre gegenseitige Anordnung zu verlassen, ändern Farbe und Gestalt (Querschnitt), die Zellflüssigkeit trübt sich körnig; der ursprünglich centrale Kern rückt an die Wandung; die Zelle verliert ihren Turgor. Ich will dies die Erscheinungen des gewöhnlichen Absterbens nennen. Die des ungewöhnlichen Absterbens, die bei starker Verdünnung des Giftes eintreten, bestehen vorzüglich darin, dass die Chlorophyllbänder von dem Plasmaschlauch, der vorerst noch genau in seiner ursprünglichen wandständigen Lage bleibt, sich ablösen, verkürzen und zusammenballen, wobei die Zelle ihren Turgor vorerst noch behält.“

Je mehr die giftigen Lösungen, auch Sublimat versuchte Nägeli, verdünnt wurden, desto mehr traten die ungewohnten Erscheinungen in voller Reinheit auf. Nägeli bezeichnet sie nun, im Gegensatz zu den „specifischen“ Wirkungen des Giftes, den chemischen, als die „oligodynamischen“.

Da die letzteren auch bei sextillionfacher und septillionfacher Verdünnung eintraten, die auf 1 Liter Wasser nur den trillionsten Theil eines Moleküls enthielt, so kam Nägeli durch mannichfache Versuche auf den Verdacht, dass das zur Lösung benutzte Wasser die Schuld an den Störungen trage: Es zeigte sich dann auch, dass die Spirogyren in destillirtem Wasser fast immer nach kurzer Zeit starben.

Nägeli wies dann nach, dass die oligodynamischen Erscheinungen nicht von absorbirten Gasen, insbesondere nicht von salpetriger Säure herrührten, dass dagegen von den schwerlöslichen Körpern, die er prüfte, Kupfer, Silber, Blei, Zinn, Eisen, Quecksilber mit Wasser in Berührung gebracht „oligodynamisch“ wirkten. Wegen der Einzelheiten der Versuche, die Nägeli vielfach mit gut gereinigten Münzen anstelle, weil sie leicht eine quantitative Abstufung und Bestimmung der wirksamen Oberfläche erlaubten, muss auf das Original verwiesen werden.

Meistens bediente sich Nägeli der Kupfermünzen, um indifferentes Brunnenwasser überhaupt, oder schwach wirkendes destillirtes Wasser stärker wirksam zu machen. Solches Wasser konnte er auf verschiedene Weise wieder unschädlich machen, indem unlösliche Körper (Schwefel, Kohlenstoff, Steinkohle, Koaks, Torf, Braunstein, auch organische Verbindungen, wie Stärkemehl, Cellulose in Form von schwedischem Filtrerpapier, Baumwolle, Leinwand oder Holz) hineingelegt wurden, desgleichen Seide, Wolle, Stearinsäure, Paraffin u. s. w. Grosse Mengen von Algen bei den Versuchen angewandt, wirkten in gleicher Weise neutralisirend. Auch colloide Körper, Gummi, Dextrin, Eiweiss, Leim, verringerten die Schädlichkeit oder hoben sie auf, während Crystalloide, wie Zucker, diese Eigenschaft gar nicht oder in viel geringerem Umfange hatten. Glas verhielt sich wechselnd, was Nägeli auf die „oligodynamische Nachwirkung“ zurückführte. Legte er z. B. in ein Glas mit etwas Wasser mehrere Goldkronen oder Kupfermünzen, nahm sie nach einigen Tagen heraus, goss das Wasser fort, spülte das Gefäss gut aus und beschickte dasselbe Glas darauf mit neutralem Wasser, so beobachtete er an den eingebrachten Spirogyren dennoch oligodynamische Erscheinungen: ja, die Nachwirkung concentrirte sich auf die Stellen, wo die Münzen das Glas berührt hatten; an diesen Stellen starben die Spirogyren zuerst ab; doch wurde auch, wenn die Kupferstücke ohne das Glas zu berühren im Wasser aufgehängt waren, das Glas in seiner ganzen Oberfläche befähigt, indifferentes Wasser wirksam zu machen.

Wärme erhöhte die oligodynamische Wirkung, doch konnte sie allein eine solche nicht hervorrufen, ebenso erwies sich das Licht als indifferent, auch elektrische Vorgänge

konnten durch ausgiebige Versuche ausgeschlossen werden.

Bei den Versuchen, die wahre Ursache der Oligodynamik zu ermitteln, stellte Nägeli fest, dass reines Gold, aus Goldchlorid hergestellt, und Platin ganz unlöslich waren und dass Reinigung oligodynamisch nachwirkender Gläser mit Salzsäure alle Wirkung aufhob; dagegen liessen sich Kupfer, Blei, Zink und Eisen durch Eindampfen von 5, bzw. 10 Liter damit behandeln Wassers qualitativ nachweisen.

Nägeli unterscheidet nach seinen Untersuchungen drei Formen der durch giftige chemische Agentien hervorgerufenen Erscheinungen an Spirogyrazellen: 1) die durch physikalische Wirkungen hervorgerufenen Resultate, übereinstimmend mit den Erscheinungen der Plasmolyse, wie sie auch bei starker Concentration unschädlicher Stoffe eintreten, 2) die chemischen Wirkungen (vergl. oben S. 295) und 3) die oligodynamischen.

Aus dem reichen Inhalt der hinterlassenen Arbeit Nägeli's ist noch hervorzuheben, dass er bei Beschreibung der durch höhere Temperaturen (bis 40°) hervorgebrachten Wirkungen eine grosse Inconstanz der einzelnen Abweichungen und deren Abhängigkeit von den wechselnden Vegetationszuständen feststellen konnte, insofern letztere von grossem Einfluss auf die Widerstandsfähigkeit der Spirogyrazellen sind.

Auch das Verhalten der Zellen bei noch weiterer Verdünnung der Lösungen zog Nägeli in Untersuchung und kam zu dem Ergebniss (a. a. O. S. 40), dass man an einen Punkt gelange, wo die Loslösung der Spiralbänder vom Plasmachlauch nicht mehr erfolgt, sondern lediglich eine mehr oder weniger starke Ausscheidung von unlöslichem Plasma in der Zellflüssigkeit, das sich vorzugsweise an den Enden der Zellen anhäuft.

Letzterer Zustand wird oft genug an unter natürlichen Verhältnissen gestorbenen Spirogyren beobachtet und Nägeli stellt (a. a. O. S. 42) fest, dass manche löslichen Stoffe „in gröserer Menge chemisch-giftiges, in geringerer oligodynamisches und in noch geringerer Menge natürliches Absterben bedingen“. Er hält natürlichen Tod und chemisch-giftige Wirkung für analog, indem natürlicher Tod die langsame Wirkung einer chemischen Vergiftung sei; dagegen unterscheide

sich die oligodynamische Wirkung von den beiden nicht dem Grade, sondern der Natur nach.

Auf die Einzelheiten der Versuche braucht hier nicht weiter eingegangen zu werden, es sei nur noch auf die Schlussbemerkungen hingewiesen, welche C. Cramer (a. a. O. S. 45) der bedeutsamen Grundlage anfügt. Neben einer vollen Bestätigung der Feststellungen Nägeli's sind noch einige neue Ermittelungen daraus zu entnehmen, welche die Angaben Nägeli's ergänzen: Von Glas in Glas destillirtes Wasser erwies sich als ganz neutral, *Spirogyra setiformis* (?) mit linsenförmigem Kern im Vergleich mit anderen Spirogyren als viel resistenter. Durch Eisoxydhydrat, *Leptothrix ochracea* wurde oligodynamisches Wasser entgiftet.

Es braucht hier nicht auseinander gesetzt zu werden, weshalb den oben referirten Beobachtungen ein besonderes Interesse für den Pathologen zukommt. Derselbe giftige Stoff in verschiedener Concentration ruft nicht graduell, sondern ihrer Natur nach verschiedene Wirkungen hervor, dieselbe Noxe, in verschiedener Intensität einwirkend, qualitativ, nicht quantitativ differente, leicht sichtbare Aeusserungen. Dazu kommt die Möglichkeit, die Einwirkung der Noxe von Anfang bis zu Ende mit dem Auge verfolgen zu können. Selbst wenn es sich ergeben sollte, dass die von v. Nägeli angenommene Eigenart der oligodynamischen Erscheinungen nicht in dem von ihm aufgestellten Maasse zutreffe, so war doch, abgesehen von der hohen Bedeutung der Versuche für die Beurtheilung gewisser physikalisch-chemischer Vorgänge, auch für die Pathologie des pflanzlichen Protoplasmas eine bisher unbekannte Erscheinung festgestellt, deren Kenntniss geeignet sein konnte, weitere Aufschlüsse über die Eigenschaften der lebenden Substanzen überhaupt anzubahnen.

Ohne zunächst auf die theoretischen Erwägungen einzugehen, welche uns bestimmten, gerade auf der Basis der Publicationen von v. Nägeli und Cramer weiterzubauen, sei es uns gestattet, in die Berichterstattung über unsere anschliessenden Untersuchungen einzutreten.

Zuvörderst schien es geboten, die Bedingungen, unter denen „oligodynamische Erscheinungen“ zu Stande kommen, bezüglich der Antheile ihrer einzelnen Factoren an ihrer Hervorrufung zu studiren, dann die Unterschiede, welche die verschiedenen Arten von Spirogyren in Bezug auf die Reactionen aufweisen. Es hatte sich nehmlich schon bei früheren Versuchen, übereinstimmend mit der Angabe Cramer's über die besondere Widerstandsfähigkeit von *Sp. setiformis* (a. a. O. S. 47) herausgestellt, dass neben gewissen Eigenthümlichkeiten in der Form auch die Zeit des Eintritts der oligodynamischen Reaction sehr merkliche Abweichungen bei den angewandten Spirogyra-Arten zeigte.

An die Prüfung der Empfindlichkeit gegen Kupferwasser schloss sich die Verwendung anderer giftiger Substanzen und die Einwirkung von Kupferwasser auf andere Lebewesen mit mehr oder weniger geschütztem Protoplasmakörper. Sehr interessant war das Ergebniss, welches die Versuche mit destillirtem Wasser hatten, sowie die bezüglich der chemotaktischen Einwirkung der benutzten Lösungen gewonnenen Resultate.

Zur Orientirung wurden die Versuche Nägeli's mit der un wesentlichen Abweichung wiederholt, dass statt der Münzen Metallfolien benutzt wurden, weil sie mit grösserer Sicherheit mechanisch gereinigt werden konnten und eine zahlenmässige Bestimmung der wirksamen Oberflächen gestatteten. Als Versuchsmaterial dienten verschiedene Arten von Spirogyra, die gegenüber dem hiesigen Wasserleitungswasser sich ganz indifferent verhielten, weil sie entweder den gleichen Gewässern entstammten, wie dieses, oder wie die einem Rhizopodenbassin des zoologischen Instituts entnommenen Algen im Leitungswasser seit Jahren acclimatisirt waren¹⁾.

¹⁾ Die Spirogyren wurden in offenen Gläsern an hellen Fenstern cultivirt, wo sie vor der directen Besonnung durch Mattglasscheiben geschützt waren. Am ausdauerndsten erwies sich *Sp. laxa*, die sich in den kleinen Gläsern gut hielt, während die anderen im Laufe von 2 Monaten meistens wohl den schädlichen Einflüssen der Laboratoriumsluft erlagen, obwohl alle 2 Wochen das Wasser gewechselt wurde, was sich bei vergleichenden Versuchen als vortheilhaft erwiesen hatte. Häufig fanden sich physiologische Veränderungen in den Culturen, die darin zum Ausdruck kamen, dass sich in einzelnen Zellen, bisweilen auch in

Es wurde vorzugsweise experimentirt an *Spirogyra crassa* (etwa 120 μ breite Fäden), *Sp. majuscula* (etwas dünner, 4–6 Bänder), *Sp. laxa* (lange Zellen, mit einem Band, ganz dünn) und an einer erst später in unseren Besitz gelangten Art von der Erscheinung der *Sp. nitida*, die jedoch nicht genau bestimmt werden konnte, da während der Beobachtungszeit keine Conjugation statthatte, sowie *Sp. setiformis*, die neben der gestreckten Spiralform ihrer Chlorophyllbänder noch durch eine dicke Gallerthüle ausgezeichnet ist. Für die mit manchen Schwierigkeiten verknüpfte Beschaffung und Bestimmung des pflanzlichen Materials hatten wir uns der bereitwilligen Unterstützung des Herrn Geheimrath Schwendener, des Herrn Prof. Kny, sowie seines Assistenten Herrn Dr. Kolkwitz zu erfreuen. Wir wollen nicht versäumen, den Herren auch an dieser Stelle unseren besten Dank auszusprechen.

Die Versuche ergaben im Allgemeinen, dass die Zurückziehung der Chlorophyllbänder in einer Form auftrat, die nicht ganz mit der von Nägeli beschriebenen übereinstimmte, insofern dieselbe an den von uns benutzten Spirogyren nur ausnahmsweise die von Nägeli beschriebene Trennung der Bänder von dem Plasmashlauch zeigte, der nur durch einzelne Protoplasmafäden mit den Spiralbändern gelegentlich zusammenhing, sondern es machte sich bei den meisten Arten geradezu regelmässig eine Spaltung des Protoplasmaschlauches derart bemerkbar, dass ein zarter innerer Schlauch mit den Bändern im Zusammenhang sich zurückzog und der Verschiebung der Bänder folgte, während der äussere Rest des Schlauches an der Zellmembran zurückblieb. An *Sp. majuscula* und *Sp. laxa* ist diese reguläre Spaltung, die wir als „Plasmoschise“ der bekannten „Plasmolyse“

längerem Reihen derselben, die Chlorophyllbänder mehr oder weniger weit von einem Ende der Zelle oder auch von beiden zurückzogen, ohne dass die Zellen sonst irgend eine Abweichung zeigten oder eine Schädigung aufwiesen. Oftter auch lagen die Chromatophoren ganz gestreckt in der Zelle, dem Längscontour in der Projection mehr oder weniger parallel, als wenn die übrigen Theile ein stärkeres Längenwachsthum erfahren hätten, indess die in ihrer Zunahme zurückgebliebenen grünen Bänder mechanisch gestreckt wurden. Auch hier war keine weitere Schädigung der Zellen zu erkennen.

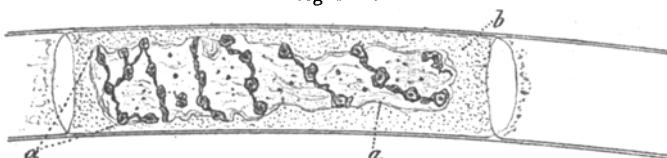
gegenüber stellen möchten, besonders leicht und deutlich zu erkennen (Fig. 1, 2). Der an der Zellwand anhaftende Theil giebt

Figur 1.



Sp. majuscula. Plasmoschise in Kupferwasser. Die Spiralbänder haben sich zurückgezogen und sind mit dem Kern und dem Protoplasma-fäden auf die Seite getreten.

Figur 2.



Sp. majuscula. Plasmoschise in Kupferwasser. a innerer Plasmaschlauch. b an der Zellstoffmembran zurückgebliebener äusserer Theil des Protoplasmaschlauchs.

ihr ein körniges Aussehen bei Einstellung der Flächenansicht, während er im optischen Längsschnitt als ein feiner, körnerhaltiger, sonst aber hyaliner Saum die Zellmembran an ihrer Innenseite begleitet (Fig. 5). Später sind die Chlorophyllbänder manchmal auch von dem abgespaltenen Theil des Protoplasmas losgelöst und bisweilen noch durch kurze Fäden farblosen körnigen Plasmas mit ihm in Zusammenhang; oft ist die Ablösung nur partiell eingetreten. Die Chlorophyllbänder sind

Figur 3.



Sp. laxa. Geringfügige Plasmoschise. a noch zum Theil in seiner Lage erhaltenes Spiralband. b mit dem Protoplasmaschlauch abgelöstes Spiralband.

Figur 4.



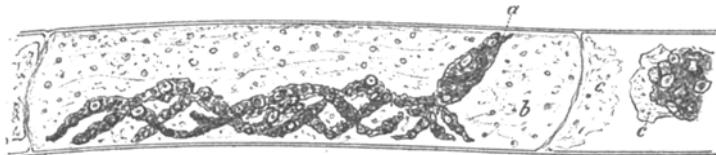
Sp. laxa. Mit 10 prozentiger Kochsalzlösung hervorgerufene Plasmolyse. Der gesammte Protoplasmaschlauch mit dem Chlorophyllband von der Cellulosemembran abgelöst.

Figur 5.



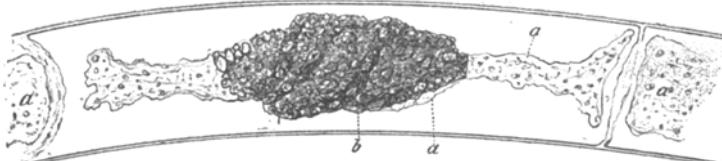
Sp. laxa. Plasmoschise. Das Chlorophyllband (a) abgelöst und von dem grössten Theil des Plasmaschlauches umgeben. An der Zellmembran geringfügige Reste von Protoplasma zurückgeblieben.

Figur 6.



Sp. crassa. Plasmoschise. a die Spiralen sind abgelöst, eine der Windungen ist an ihrem Fixationspunkt haften geblieben. b der an der Zellmembran zurückgebliebene Theil des Protoplasten. c der abgelöste Theil des Protoplasmas durchgerissen.

Figur 7.



Sp. crassa. Plasmoschise und cadaveröse Plasmolyse. a total abgelöster und geschrumpfter Protoplasmaschlauch. b die zusammengeballten Chromatophoren.

dann vielfach in kuglige oder längliche, klumpige Massen zusammengeballt, die nichts mehr von ihrer ursprünglichen Anordnung erkennen lassen (Fig. 6, 7). Die Spaltung ist nicht immer so regelmässig in ihrer Anordnung; bei manchen Arten überwiegt von vornherein die Bildung von Fäden zwischen der wandständigen Protoplasmaschicht und den Chlorophyllbändern. Aber auch in diesem Falle ist, wenngleich kein zusammenhängender innerer Schlauch, so doch vielfach ein protoplasmatischer Ueberzug an den prominenten Theilen der Chromatophoren zu sehen, besonders deutlich an den Stellen, wo die Protoplasmefäden inseriren (Fig. 8). Recht oft begegnete uns diese Form der Plasmo-

{Figur 8.



Sp. nitida (?). Oligodynamische Erscheinungen nach 4 Minuten währendem Aufenthalt in Kupferwasser. Die Chlorophyllbänder zum Theil durch Plasmafäden mit dem wandständigen Protoplasma in Verbindung.

Figur 9.

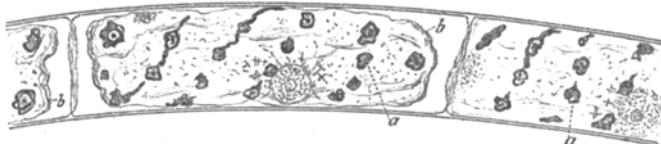


Dasselbe Object wie Fig. 8. 1 Stunde später. Cadaveröse Plasmolyse. Die Chromatophoren zusammengeballt; das Protoplasma von der Zellmembran zurückgezogen und geschrumpft.

schise an einer Spirogyra, die, nicht mit Sicherheit bestimmt, der *Sp. nitida* jedenfalls nahestand. An Spirogyra nitida hat gerade Nägeli vorzugsweise seine Beobachtungen gemacht und dort auch solche Fäden von Protoplasma beschrieben.

Ein Theil der Bänder zerfällt bisweilen in grobe rundliche Körner, deren Hauptbestandtheil die Pyrenoide mit den Leukoplasten bilden (Fig. 10). Nach 24 Stunden hat sich regelmässig auch der Anfangs an der Zellwand zurückgebliebene Theil des Plasmeschlauches abgelöst und mehr oder weniger zurückgezogen

Figur 10.



Sp. majuscula in Quecksilberwasser. Seltener Form der Plasmoschise. Der kuglig gewordene Kern in Folge des Zerreissens der Protoplasmafäden auf die Seite getreten. a die Chromatophoren in einzelne grobe Körner zerlegt, sehr dünn. b nachträgliche Ablösung des Protoplasten von der Zellwand (cadaveröse Plasmoschise).

(Fig. 7), und die Zellmembran erscheint ganz klar, wie nach der artificiellen, durch Lösungen von hoher Concentration hervorgerufenen Plasmolyse (Fig. 4). Gegenüber der letzteren ist stets eine ganz feinkörnige Trübung des Zellsaftes festzustellen, ebenso ausnahmslos das Sistiren der Protoplasmaströmung, deren Fortbestehen H. de Vries¹⁾ bei Einwirkung starker Zuckerlösungen auf *Sp. nitida*, ebenso auch G. Klebs²⁾ an *Zygnema*, Jause³⁾ an *Caulerpa* und Wiesner⁴⁾ an *Spirogyren* und *Mesocarpus* beobachteten. Niemals trat in unseren Versuchen nach Ersatz des giftigen Wassers durch indifferentes der ursprüngliche Zustand wieder ein, wie er bei Plasmolyse durch Zuckerlösungen nach Herstellung der Isotonie des Mediums wieder hergestellt werden konnte.

Auch bei den von Plamoschise betroffenen Spirogyren zeigte sich beim Eintritt derselben die Strömung zunächst partiell, bald aber total aufgehoben. Es ist wohl selbstverständlich, dass mit der regulären Plasmaströmung und ihrer Bedeutung als Kennzeichen des lebenden Zustandes nicht das Tanzen frei im Zellsaft befindlicher oder an feineren hyalinen Protoplasmafäden aufgehängter kleiner Körner zusammengebracht werden darf. Diese Erscheinung ist sehr oft in unseren Versuchen beobachtet

¹⁾ Plasmolytische Studien über die Wand der Vacuolen. Pringsh. Jahrb. 1885. Bd. 16.

²⁾ Arbeiten aus dem Tübinger botan. Inst. Bd. II. S. 534.

³⁾ Die Bewegungen des Protoplasma von *Caulerpa prolifera*. Pringsh. Jahrb. Bd. 21. 1890. S. 279.

⁴⁾ Die Elementarstruktur der lebenden Substanz. Wien 1892. S. 249.

worden, aber geradezu als ein Zeichen des Todes anzusehen, wenn nicht nachweislich eine nur vorübergehende Lähmung der Contractionsfähigkeit des Protoplasma vorliegt. Sie ist in der Natur weit verbreitet und an toten Zellen der verschiedensten Abkunft häufig wahrzunehmen.

Die oben beschriebenen Zustände von Plasmolyse nach voraufgegangener Plasmoschise, überhaupt die nach dem Tode der Zelle auftretende Ablösung des Protoplasten von der Zellmembran, möchten wir als „cadaveröse Plasmolyse“ den durch Störung der Isotonie hervorgebrachten artificiellen Formen gegenüberstellen. Obwohl in unseren Experimenten gleichfalls artificiellen Ursprungs, entspricht sie dennoch ihrem Wesen wie den Bedingungen nach, unter denen sie eintritt, durchaus der bei Pflanzen als Leichenerscheinung in grösstem Umfange vorkommenden natürlichen Plasmolyse.

Bisweilen konnten im Innern der abgelösten Protoplasma- und Chromatophorenmasse, wo die Spiralbänder nicht zu sehr zusammengedrängt waren, noch kuglige Vacuolen von oft sehr beträchtlicher, überwiegend aber nur unbedeutender Grösse erkannt werden. Bei den meisten Arten wurde aber die Bildung dieser stets sehr zartwandigen Bläschen nur sehr selten beobachtet.

Zur Plasmoschise ist aber auch eine Erscheinung zu rechnen, die als Vorkommniss beim natürlichen Tode schon früher oft beobachtet und von dem einen von uns auf dem XI. internat. med. Congress in Rom in einem Vortrage: „Zur vergleichenden Pathologie der Nekrose“¹⁾ beschrieben, sowie durch photographische Abbildungen erläutert wurde. Es ist dies das Zerreissen der Protoplasmafäden in deren Vereinigungsstelle sich der Kern central aufgehängt findet. Die Folge ist regelmässig die Verlagerung des Kernes nach der Seite, an der die Fäden länger gehalten haben. Diese Erscheinung wurde damals durch käuffisches kohlensaures Wasser und dünne Lösungen von Anilinfarben hervorgebracht.

¹⁾ Atti del XI Congresso medico. Vol. II. Patologia generale ed Anatomia patologica. p. 173. — Die in jenem Vortrage mitgetheilten Untersuchungen konnten wegen Mangels an Zeit seitdem noch immer nicht im Zusammenhange bearbeitet werden, sind aber zum Theil in den voraufgegangenen Artikeln und in dieser Arbeit verwerthet worden.

Die Einzelheiten derselben müssen noch weiter unter (S. 331) erörtert werden.

Die Veränderungen, welche mikroskopisch als Plasmoschise festgestellt werden konnten, ändern auch die makroskopische Erscheinung der Spirogyren so erheblich, dass nach einiger Uebung der Umfang der Abweichung in den Versuchen ebenso wie das natürliche Absterben der Pflanzen in den Culturen mit Sicherheit durch das unbewaffnete Auge erkennbar ist. Die gesättigte, nach den verschiedenen Arten etwas differirende grüne Färbung der Spirogyren wird durch Störungen in der Anordnung der Chlorophyllbänder ein wenig lichter, in's Gelbliche ziehend. Dies ist namentlich bemerkbar, wenn die Plasmoschise erst einen Theil des Fadens betroffen hat, so dass sich dieser durch die Farbenänderung von den unveränderten Abschnitten abhebt. Nicht selten kann man eine feine Querstreifung erkennen, die durch den Wechsel von Chromatophoren enthaltenden und davon freien Abschnitten in den einzelnen Zellen hervorgebracht ist. Die plasmolysirten Spirogyrenzellen haben zudem ihren natürlichen Turgor in hohem Maasse eingebüßt; die Fäden dicker Arten erschlaffen so sehr, dass gesunde Fäden selbst der dünnsten Formen, wie Sp. laxa, im Vergleich mit ihnen geradezu starr erscheinen. Die Beobachtung dieser zarten Veränderungen ist für das Arbeiten sehr förderlich gewesen.

A. Versuche über den zeitlichen Ablauf der oligodynamischen Erscheinungen an Spirogyren.

I. Versuche mit Kupfer.

Diese Experimente wurden sowohl angestellt, um die Unterschiede im zeitlichen Verhalten der verschiedenen Arten, als auch den Einfluss zu ermitteln, welchen die Flüssigkeitsmenge sowie die Ausdehnung der angewandten Metallfläche auf den Ablauf der Vorgänge hatte. Es wurden in den ersten Versuchsreihen gleichzeitig Sp. laxa, Sp. crassa und Sp. majuscula geprüft. Aus jeder Versuchsreihe sei hier nur ein Versuch angeführt und zugleich hervorgehoben, dass die Abweichungen unter den einzelnen, oft wiederholten Versuchen jeder Reihe sich als ausserordentlich unbedeutend erwiesen.

1.

6 neue Schalen wurden gründlich gereinigt und in jede Schale 300 ccm Leitungswasser gegossen. In 3 Schalen wurde je ein Stück Kupferfolie (Reagenzblech) von 3mal 10 cm Ausdehnung = 60 qcm Kupferfläche gelegt. Die anderen 3 Schalen wurden zur Controle nur mit Leitungswasser (300 ccm) gefüllt. Die Schalen wurden paarweise (mit und ohne Kupfer) als I, II und III bezeichnet. In I wurden einige Fäden von Sp. laxa, in II von Sp. crassa und in III von Sp. majuscula gebracht.

Der Inhalt der Schalenpaare wurde von Viertel- zu Viertelstunde untersucht. Nach $2\frac{1}{4}$ Stunden waren in II mit Kupfer die ersten Erscheinungen (Plasmoschise) bemerkbar, während die Controle unverändert war; nach 24 Stunden cadaveröse Plasmoschise, Controle durchaus unverändert.

Merklich später, 3 Stunden nach Beginn des Versuches, wurden in Schale III mit Kupfer die ersten Erscheinungen der Plasmoschise bemerkbar, während die Controle intact war; cadaveröse Plasmolyse nach 24 Stunden, Controle unverändert.

In Schale I war nach 4 Stunden Plasmoschise eingetreten, aber nach 24 Stunden noch keine weitere Veränderung. Die Controle fortgesetzt intact.

Es zeigt sich bei diesen Versuchen, in denen gleichzeitig Kupfer und Spirogyren in das oligodynamisch neutrale Leitungswasser gebracht wurden, dass nach Verlauf mehrerer ($2\frac{1}{4}$ —4) Stunden oligodynamische Erscheinungen eintreten, denen bei Sp. crassa und Sp. majuscula innerhalb 24 Stunden cadaveröse Plasmolyse folgte, die bei Sp. laxa nicht auftrat. Die Reihenfolge der Empfindlichkeit war: Sp. crassa, Sp. majuscula, Sp. laxa.

2.

Die 3 Spirogyren wurden wie in 1. benutzt, jedoch mit dem Unterschiede, dass sie nicht schon vor dem Kupfer in die Versuchsschalen gebracht wurden, sondern erst 24 Stunden nach der Kupferfolie. Das Resultat war:

I Sp. laxa,	nach $1\frac{1}{4}$ Stdn.	Plasmoschise,	nach 24 Stdn.	keine weitere Veränderung.
II Sp. crassa,	- 15 Min.	-	- 24	cadaveröse
III Sp. majuscula,	- 30 -	-	- 24	Plasmolyse.

Alle Controleen gut erhalten.

Aus dieser Versuchsreihe ergiebt sich, dass die Zeiten im Vergleich mit 1. erheblich verkürzt sind, und zwar betragen sie

in 2.: 15 30 75 Min., gegen

in 1.: $2\frac{1}{4}$ 3 4 Stdn.; das ist

Verkürzung in 2. auf $\frac{1}{9}$ $\frac{1}{6}$ $\frac{1}{8}$ der in 1. gebrauchten Zeit.

Die Reihenfolge der Empfindlichkeit war dieselbe wie in 1.

Es ist hieraus zu folgern, dass etwa 2, $2\frac{1}{2}$ und $2\frac{3}{4}$ Stunden erforderlich waren, bis das Wasser die zur Hervorrufung oligodynamischer Erscheinungen ausreichende Giftigkeit erlangte.

3.

Versuchsanordnung wie in 2., nur wurde statt 3mal 10 cm Kupferfolie = 60 qcm wirksamer Fläche 6mal 10 cm Kopferfolie = 120 qcm wirksamer Fläche benutzt. Resultate:

I Sp. laxa,	nach $1\frac{1}{2}$ Stdn.	Plasmoschise,	nach 24 Stdn.	keine weitere Veränderung.
II Sp. crassa,	- 15 Min.	-	- 24 -	} cadaveröse
III Sp. majuscula,	- 30 -	-	- 24 -	} Plasmolyse. Controlen intact.

Obwohl in diesem Experiment die doppelte Fläche Kupfer benutzt wurde, ist das Resultat gegen II nicht geändert.

Wiederholungen dieser Versuche ergaben nur unbedeutende Differenzen bezüglich der gebrauchten Zeit.

4.

Wiederum werden 6 mal 10 cm Kupferblech verwandt, jedoch nicht vor der Einbringung der Sp. in's Wasser gebracht, sondern erst nachdem das Wasser sich als völlig indifferent gegen die Sp. erwiesen hat, hinzugefügt.

Die erhaltenen Zeiten erschienen ein wenig verkürzt, aber nicht bedeutend genug, um daraus einen Einfluss der Flächengrösse auf den Ablauf des Versuchs abzuleiten.

I Sp. laxa,	nach $3\frac{3}{4}$ Stdn.	Plasmoschise.
II Sp. crassa,	- $1\frac{1}{2}$ -	, nach 24 Stdn. Plasmolyse.
III Sp. majuscula,	- $2\frac{3}{4}$ -	- 24 -

Aus allen bisher angestellten Versuchen ergibt sich, dass die Empfindlichkeit eine constante bei den verschiedenen Arten ist aber grosse Differenzen aufweist, und dass sich die innerhalb 24 Stunden auftretenden Veränderungen bei Sp. laxa auf Plasmoschise beschränken, während ihr bei den anderen Arten Plasmolyse folgt.

5.

Objectträgerversuche, zu denen Leitungswasser verwandt wurde, in dem auf je 300 cem je 3mal 10 oder 6mal 10 cm Kupferfolie 24 Stunden gelegen hatte.

Die mehrmals wiederholten Versuche ergaben übereinstimmende Re-

sultate, indem die verschiedene Grösse der Kupferfolie keine Differenz verursachte.

Die frischen in das Wasser gebrachten Fäden zeigten bei

I Sp. laxa Plasmoschise nach $1\frac{1}{4}$ Stdn.

II Sp. crassa - - 15 Min.

III Sp. majuscula - - 30 Min.

Im Laufe der Arbeit kamen wir in den Besitz einer vierten Art von Spirogyra, die ihrer Form nach als Sp. nitida anzusehen war, aber da keine Conjugation beobachtet wurde, nicht genau bestimmt werden konnte. Es wurden an ihr alle Versuche von 1.—5. mit fortgesetzten Controlversuchen wiederholt. Die Ergebnisse derselben sind in der folgenden Tabelle mit denen der 3 gleichzeitig bearbeiteten Spirogyren, nach dem zeitlichen Ablauf geordnet, zusammengestellt. Diese Spirogyre steht durchgehend an Empfindlichkeit allen anderen voran.

T a b e l l e I.

	(1.)		(4.)		(2.)		(3.)		(5.)	
	Plasmo- schise	Plasmo- lyse	Plasmo- schise	Plasmo- lyse	Plasma- schise	Plasmo- lyse	Plasmo- schise	Plasmo- lyse	Plasmo- schise	Plasmo- lyse
300 ccm Wasser mit Spiro- gyren, nach 24 Stdn. 3mal 10 Kupfer			300 ccm Wasser mit Spiro- gyren, nach 24 Stdn. 6mal 10 Kupfer		300 ccm Wasser mit 3 mal 10 Kupfer, nach 24 Stdn. Spirogyren		300 ccm Wasser mit 6 mal 10 Kupfer, nach 24 Stdn. Spirogyren		Objectträger- versuch mit 3mal 10 Kupfer und 300 ccm Wasser	
Sp. nitida (?)	14—15 Min.	10 Stdn.	14—15 Min.	10 Stdn.	4—5 Min.	1 Stde.	4—5 Min.	1 Stde.	4—5 Min.	1 Stde.
Sp. crassa	$2\frac{1}{4}$ Stdn.	24 Stdn.	$1\frac{1}{2}$ Stdn.	24 Stdn.	15 Min.	12 Stdn.	15 Min.	24 Stdn.	15 Min.	12 Stdn.
Sp. majuscula	3 Stdn.	24 Stdn.	$2\frac{3}{4}$ Stdn.	24 Stdn.	30 Min.	24 Stdn.	30 Min.	24 Stdn.	30 Min.	24 Stdn.
Sp. laxa	4 Stdn.	—	$3\frac{1}{4}$ Stdn.	—	$1\frac{1}{4}$ Stdn.	—	$1\frac{1}{4}$ Stdn.	—	$1\frac{1}{4}$ Stdn.	—

In den Versuchen 3 und 4 hatte sich gezeigt, dass das Wasser nicht schneller seine Giftwirkung ausübte, wenn es mit einer grösseren Kupferfläche 24 Stunden in Berührung war, als wenn eine kleinere Fläche verwandt wurde. Es ist daraus zu schliessen, dass bei einer Zeitdauer von 24 Stunden die letztere ausreichte, um dem Wasser den höchsten auf diese Art zu erreichenden Grad von Giftigkeit zu verleihen. Damit war aber

nicht erwiesen, dass die Grösse der Kupferfläche in allen Fällen irrelevant für das Resultat sei.

6.

Es wurde zu den hierauf bezüglichen Versuchen Spirogyra nitida (?), die sich als sehr empfindlich erwiesen hatte, verwandt.

a.

300 ccm Leitungswasser mit 3mal 10 cm Kupferblech zusammengebracht, war schon nach 20 Min. wirksam. Beim Objectträgerversuch trat an dem Sp.-Faden schon nach 4—5 Min. Plasmoschise ein.

b.

Bei dem gleichen Versuch mit 6mal 10 cm Kupferblech war schon nach 10 Min. die gleiche Wirkung nachzuweisen.

7.

Wurden Spirogyren gleichzeitig

a) mit 3mal 10 cm Kupferfolie in 300 ccm Wasser gebracht, so dauerte es $\frac{1}{2}$ Stunde,

b) mit 6mal 10 ccm Kupferfolie in demselben Quantum Wasser 15 Min., bis eine schon an fast allen Zellen erkennbare Plasmoschise eintrat.

Diese beiden letzten Versuchspaare (6 und 7) zeigen also, dass das Wasser nach einer beträchtlich kürzeren Zeit, 20 und 10 Minuten (Vers. 6a und b), giftig wird, und dass die Zeit, welche zur Erreichung der Giftigkeit erforderlich ist, in umgekehrtem Verhältniss zur benutzten Kupferfläche steht.

8.

Da die Kupfermenge, welche sich dem Wasser, falls andere Kräfte ausgeschlossen werden können, mitgetheilt haben muss, um es „oligodynamisch wirksam“ zu machen, nicht genauer chemisch bestimmt werden kann, so war es wichtig, zu ermitteln, wie weit sich oligodynamisches Kupferwasser verdünnen liess, ohne seine schädigende Einwirkung auf die lebenden Substanzen der Spirogyren einzubüßen. Es wurde deshalb Wasser, das 24 Stunden mit Kupferfolie (300 ccm Wasser zu 3mal 10 cm Kupferfolie) gestanden hatte, mit gleichen Theilen inaktiven Wassers verdünnt, ohne in Schalenversuchen eine bemerkbare Differenz zu zeigen; die Wirkung trat bei der angewandten Spirogyra in 4—5 Minuten ein. In der folgenden Tabelle sind die Zeiten notirt, welche bei steigender Verdünnung mit Leitungswasser bis zum ersten Eintritt von Spaltungerscheinungen

verstrichen. Es sei hier hervorgehoben, dass sich der Anfang der Plasmoschise fast regelmässig zuerst durch die Zurückziehung der Chromatophoren von den Querwänden der Zellen bemerkbar machte.

T a b e l l e II.

	Verdünnung des Kupferwassers mit Leitungswasser im Verhältniss von									
	1 : 2	1 : 3	1 : 4	1 : 10	1 : 20	1 : 40	1 : 50	1 : 80	1 : 90	1 : 100
Zeit der Plasmo- schise	8 Min.	15 Min.	20 Min.	30 Min.	2 Stdn.	6—8 Stdn.	nach 10 Stdn.	nach 10 Stdn.	zwischen 10—24 Stdn.	24 Stdn.
Wirkung	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Es ergiebt sich aus diesen Versuchen, dass noch der 100. Theil des in dem auf die angegebene Weise hergestellten „oligodynamisch wirksamen“ Wasser enthaltenen Kupfers giftige Wirkungen auf Spirogyrazellen ausübt, wenngleich dieselben langsamer und in einer von der gewöhnlichen abweichenden Form auftreten. Sie äusserten sich zunächst lediglich im Aufhören der Strömung und der oben S. 305 erwähnten Kernverlagerung, hervorgerufen durch Zerreissen der Protoplasmastränge. An den Kernen konnte regelmässig eine starke Aufblähung und Färbbarkeit durch Kernfarben constatirt werden. Später trat auch an derartig veränderten Zellen caderöse Plasmolyse ein. Bei Verdünnungen unter 1:30 war diese Form die typische; dass sie der Plasmoschise zugerechnet werden muss, wird weiter unten (S. 330) nachgewiesen werden.

Wurde die Verdünnung noch weiter fortgesetzt, so zeigte sich bei 1:150, dass auch das Durchreissen der Fäden und Aufdertseitelige des Kerns nicht mehr zu Stande kamen, dagegen die Plasmaströmung nach etwa 24 Stunden ohne sonstige Veränderung ganz aufhörte, oder dass bisweilen die Chlorophyllbänder ein wenig unregelmässig derart lagen, dass vielfach je zwei benachbarte einander etwas genähert und dadurch so angeordnet waren, dass entsprechend grössere Zwischenräume daneben entstanden. Bei *Spirogyra crassa* wurde es dadurch möglich die Protoplasmafäden, welche wegen der dichten Stellung der Chromatophoren sonst nicht immer gut zu sehen sind, sehr leicht und deutlich zu erkennen. Dass nicht die geringste Strö-

mung statt hatte, war mit Sicherheit festzustellen. Ganz ähnlich ist die Erscheinung von Spirogyren, welche durch kurz-dauernde, starke elektrische Inductionsströme getötet worden sind, während bei Anwendung schwächerer Ströme Dislocation der Kerne und gröbere plasmoschistische Deformationen überwiegen.

Makroskopisch fiel es auf, dass die Spirogyren durchweg erschlafft waren, während die Controleen ihre reguläre Straffheit bewahrt hatten. Es ist dieses eine Form des Zelltodes, welches wir gelegentlich bei Anwendung von Anilinfarben in sehr grosser Verdünnung sahen, wo sowohl Zerreissen der Plasma-fäden als auch, in anderen Fällen, keine Formänderung bei dem Farbstoff entsprechender Tinction der Zelle auftrat. Der Kern erschien bei Anwendung des hochverdünnten Kupferwassers in gleicher Weise verändert wie bei Anilinfärbungen und Quecksilberwasser.

II. Versuche mit anderen Metallen.

Wir gingen ferner daran, unter Innehaltung der bisher befolgten Versuchsanordnung sowie fortlaufender Controleen, die Wirksamkeit der anderen Metalle zu untersuchen.

1. Quecksilber.

Die Art des zeitlichen Verlaufs erwies sich, wo eine Wirkung überhaupt constatirt wurde, ebenso wie die Empfindlichkeitsreihenfolge der verschiedenen Arten als durchaus übereinstimmend mit den durch Kupfer erhaltenen Resultaten. Wir beschränken uns daher darauf, zur Illustration dieses Verhaltens eine Tabelle der in den Quecksilberversuchen erhaltenen Zahlen zu geben, welche die energische Wirkung dieses Metalles darthun.

Dennoch aber machte sich ein Unterschied in der Form der Erscheinung dahin geltend, dass die Plasmoschise sich bei Sp. majuscula und Sp. crassa nur selten in der im unverdünnten Kupferwasser beobachtenden Weise kundthat, sondern ganz überwiegend das auf S. 311 als Wirkung des stärker verdünnten Kupferwassers beschriebene Aussehen hervorbrachte. Meistens traten nur die Kerne auf die Seite, von den Gipskrystallen dichter umlagert. Die Chlorophyllbänder waren unregelmässig zusammen-

T a b e l l e III.

	300 ccm Wasser mit Spirogyren nach 24 Stdn. Quecksilber		300 ccm Wasser mit Spirogyren nach 24 Stdn. Quecksilber		300 ccm Wasser + Quecksilber nach 24 Stdn. Spirogyren		300 ccm Wasser + Quecksilber nach 24 Stdn. Spirogyren		Objectträger-versuch 300 ccm Wasser mit Quecksilber 24 Stunden	
	Plasmo-schise	Plasmo-lyse	Plasmo-schise	Plasmo-lyse	Plasmo-schise	Plasmo-lyse	Plasmo-schise	Plasmo-lyse	Plasmo-schise	Plasmo-lyse
Spirogyra	25 Min.	12 Stdн.	25 Min.	12 Stdн.	5—6 Min.	2 Stdн.	5 Min.	1 Stde.	5 Min.	1 Stde.
Sp. crassa	40 Min.	24 Stdн.	40 Min.	24 Stdн.	30 Min.	12 Stdн.	30 Min.	12 Stdн.	30 Min.	12 Stdн.
Sp. majuscula	1 Stde.	24 Stdн.	1 Stde.	24 Stdн.	40 Min.	14 Stdн.	40 Min.	14 Stdн.	40 Min.	14 Stdн.
Sp. laxa	5 Stdн.	—	5 Stdн.	—	2½ Stdн.	—	2½ Stdн.	—	2½ Stdн.	—

gerückt, vielfach gerade an den Kernstellen besonders stark verworfen, als wenn die verkürzten Fäden sie aus ihrer regulären Lage herausgezogen hätten. Die Kerne erschienen meistens stark aufgebläht, die Kernkörperchen glänzender, ein wenig verkleinert. Eine minimale Trübung des Protoplasmaschluches machte sich gleichfalls bemerkbar; bei einigen Zellen trat aber auch keine sichtbare Veränderung der Protoplasmata ein, wie dies bei dem ganz stark verdünnten Kupferwasser beobachtet wurde. Nachträglich wurde auch an diesen Objecten Ablösung des Protoplasmata von der Zellmembran constatirt. Die Deformationen standen auch dann den durch oligodynamisches Kupferwasser erzeugten immer etwas nach.

2. Silber und Blei.

Nur in Bezug auf das Verhalten des Silbers und des Bleies stimmen unsere Ergebnisse, welche die Angaben von Nägelei's, soweit sie die in gleicher Art angestellten Versuche betreffen, durchaus bestätigen, nicht mit seinen Befunden überein. Wir erhielten ein positives Ergebniss beim Silber, dagegen ein negatives beim Blei. Worauf diese Differenz zurückzuführen ist, vermögen wir nicht anzugeben; es wurden Folien von chemisch reinem Metall benutzt

Schalenversuche mit 300 ccm Leitungswasser und 3 mal 10 ccm Silberblech; hierzu die Spirogyren, das Ergebniss war:

I Sp. laxa,	Plasmoschise nach 5 Tagen
II Sp. crassa,	- - - 36 Stunden
III Sp. majuscula,	- - - 4 Tagen.

Die angegebenen Zeiten entsprechen dem ersten Auftreten von Veränderungen an den Zellen; die Controlen blieben fortgesetzt intact.

Silber erwies sich zwar als sehr langsam wirkend im Vergleich mit Kupfer, immerhin doch nicht unwirksam. Um so überraschender ist das Ergebniss der Versuchsreihe mit Blei, zu der in gleicher Anordnung (300 ccm Leitungswasser mit 3mal 10 cm chemisch reinem Bleiblech) die gleichen Spirogyren wie in den früheren Versuchen verwandt wurden. Noch nach 8 Tagen war in allen Versuchen nicht die geringste Abweichung gegenüber den völlig intacten Controlen wahrzunehmen.

Es wäre von grosser Wichtigkeit, zu untersuchen, wie weit an diesem überraschenden Resultat die Löslichkeitsverhältnisse des Bleies, wie weit seine relative Giftigkeit gegenüber dem Protoplasma theil hat. Bei der Umständlichkeit und Schwierigkeit der quantitativen Bestimmung der in Betracht kommenden äusserst minimalen Mengen standen wir nach einigen Versuchen von einer Verfolgung dieser Fragen ab.

III. Versuche mit Kochsalz.

Die bisher aufgeföhrten Versuche hatten eine Plasmoschise und später eintretende cadaveröse Plasmolyse ergeben, die aus den verschiedenen Spirogyra-Arten zu auffallend constanten, unter sich differirenden Zeiten eintraten. Um über die hierdurch zu Tage tretende differente Widerstandsfähigkeit weitere Aufschlüsse zu gewinnen, sowie um Vergleiche zwischen der nach Anwendung oligodynamischen Wassers entstehenden Veränderung mit der durch anisotonische Lösungen hervorgebrachten Plasmolyse anstellen zu können, wurden Versuche mit 10 procentiger Kochsalzlösung (Leitungswasser) angestellt. Die auf dem Objectträger beobachtete Plasmolyse trat ein bei:

Sp. crassa	nach 1 Stunde
Sp. majuscula	- $2\frac{1}{4}$ Stunden
Sp. laxa	- 3 -

Die Versuche wurden wiederholt und stets mit Controlen angestellt.

Weil die Indifferenz des Leitungswassers mit dem Salzgehalt desselben qualitativ und quantitativ in Zusammenhang gebracht werden musste, ebenso wie die bekannte indifferente Wirkung der sogen. physiologischen Kochsalzlösung auf thierische und pflanzliche Zellen von hoher Empfindlichkeit, so vermochten wir ferner destillirtes Wasser durch Zusatz von Kochsalzlösung indifferent zu machen, da wir die Angabe Nägeli's, dass solches Wasser oligodynamisch wirke, bestätigt gefunden hatten.

Es ist bekannt, dass der Titre der physiologischen Kochsalzlösungen vielfach verschieden ist, was wohl auf den grösseren oder geringeren Säuregrad des käuflichen Aq. destillat. zurückzuführen ist. Wir benutzten deshalb zu diesen Versuchen selbstdestillirtes Wasser, welches von dem erwähnten Fehler frei war und es ergab sich, dass eine 1 procentige Lösung an *Sp. crassa* Plasmolyse nach 1 Stunde, an *Sp. majuscula* nach 1½ Stunden, an *Sp. laxa* nach 2 Stunden hervorrief. 0,9 prozentige verursachte eine bedeutende Aufblähung der Zellmembran, die nach einigen Stunden hervortrat, 0,8 prozentige eine solche nach etwa 24 Stunden.

Gänzlich indifferent erwies sich 0,7 prozentige Kochsalzlösung, in der die Spirogyren Tage lang unverändert blieben; bei 0,6 prozentiger trat eine geringe Quellung ein, die aber erst nach etwa 36 Stunden bemerkbar wurde, während oligodynamische Veränderungen und Plasmolyse gänzlich ausblieben. Die Zeit des Eintritts der Veränderungen ist aus folgender Tabelle zu ersehen:

T a b e l l e IV.

	1 pCt. NaCl	0,9 pCt. NaCl	0,8 pCt. NaCl	0,6 pCt. NaCl
<i>Sp. crassa</i>	1 Stunde	2 Stunden	24 Stunden	1½ Tage
<i>Sp. majuscula</i>	1½ Stunden	3½ -	36 -	3½ -
<i>Sp. laxa</i>	2 -	4 -	30 -	4 -

Es ist aus den obigen Versuchen nun zu folgern, dass die Widerstandsfähigkeit der Spirogyrenarten gegen anisotonische Lösungen sich ebenso verhält, wie gegen oligodynamische, insofern auch hier die Reihenfolge *Sp. crassa* — *majuscula* —

laxa war, ferner dass eine Kochsalzlösung von 0,7 pCt. sich auch bei ihnen als indifferent erwies und somit nicht Differenzen der Plasmabeschaftenheit die Ursache der nach den Arten verschiedener Widerstandsfähigkeit sind, sondern dass letztere in dem verschiedenen Schutz durch die Zellmembran oder besonderen Struktureigen-thümlichkeiten anderer Art begründet sein muss. Die später untersuchte Sp. setiformis mit der dicken, gallertigen Hülle, welche die Cellulosehaut äusserlich vollständig umhüllt, erwies sich an Empfindlichkeit der Sp. nitida(?) mindestens gleichstehend. Es erscheint danach möglich, dass die Membran der Spirogyren in verschiedenem Grade benetzbar ist und hierin ein Grund des differenten zeitlichen Eintritts der Plasmastörungen liegt, der durch Differenzen in der Dicke der Cellulosemembranen nicht erklärt wird.

IV. Versuche mit Sublimat.

v. Nägeli hatte bereits mit Quecksilbersublimat, allerdings in anderer Absicht, Versuche angestellt, die eine oligodynamische Wirkung von Lösungen ergaben, die im Liter nur Bruchtheile einer Molekuls enthielt und dazu führten, dass die Wirksamkeit des angewandten destillirten Wassers entdeckt wurde.

Abgestufte Lösungen eines giftigen Salzes sollten uns dazu dienen, die von Nägeli als „chemische Wirkung“ und „specifische Giftwirkung“ bezeichneten Veränderungen der Algen in ihrem Verhältniss zu der „oligodynamischen Wirkung“ näher aufzuklären.

Stärkere Lösungen wie die zur Desinfection gebräuchliche Lösung von 1:1000, ebenso 1:2000, riefen in kürzester Zeit Erstarrung, im histologischen Sinne vollkommene Fixation, hervor, was v. Nägeli als chemisch giftige Wirkung bezeichnet. Die Zellen erschienen durch Fällung des Zellsaftes, sowie feinkörnige Veränderung der Protoplasten leicht getrübt, die Kernform erhalten. Eine nachträgliche Plasmoschise oder Plasmolyse trat nicht ein.

Die ganz in der Anordnung der früheren Experimente an 4 Arten von Spirogyra gleichzeitig angestellten Versuche hatten das in der folgenden Tabelle zusammengestellte Ergebniss:

T a b e l l e V. Sublimat.

	1 : 10 000 Leitungs- wasser	1 : 100 000 Leitungs- wasser	1 : 500 000 Leitungs- wasser	1 : 1 000 000 Leitungs- wasser	1 : 5 000 000 Leitungs- wasser
	Erstarrung Nachträg- liche Ver- änderung	Erstarrung Nachträg- liche Ver- änderung	Aufhören der Strömung Plasmo- schise	Aufhören der Strömung Plasmo- schise	Aufhören der Strömung Plasmo- schise
Spirogyra ni- tida (?)	2—3 Sec.	—	10 Min.	—	30 Min. 1 Stde.
Sp. crassa	1 Min.	—	20 Min.	—	1 Stde. 3 Stdn.
Sp. majuseula	3 Min.	—	1 Stde.	—	2 Stdn. 6 Stdn.
Sp. laxa	10 Min.	—	2 Stdn.	—	4 Stdn. 10 Stdn.

1) Atrophischer Zerfall nach 5—6 Tagen.

Diese Tabelle ist insofern besonders interessant, als sich bei den starken Lösungen nur eine dauernde Fixation einstellte, der nachträgliche Veränderungen nicht folgten. Bei einer Lösung von 1 : 500000 trat die Starre nicht mehr ein, dagegen wurde, wie in den Versuchen mit oligodynamischen Kupferlösungen, nach kurzer Zeit Aufhören der Plasmaströmung und darauf Plasmochise beobachtet. Vor dem Aufhören der Strömung unterscheidet sich die Erstarrung, abgesehen von der Trübung der Zelle, auch durch das Fehlen der Molekularbewegung an scheinbar frei liegenden Körnern (vergl. oben S. 304).

Bei 1 : 1000000 wurde ein der Plasmochise voraufgehendes Aufhören der Strömung nicht beobachtet, dagegen war die Störung, besonders bei Sp. crassa fast nur auf das Zerreissen der Plasmafäden, Färbung des Protoplasmaschlauches, Dislocation und Quellung des Kernes beschränkt. Letzterer Zustand scheint bei allen Todesarten mehr oder weniger entwickelt beobachtet zu werden. Bei den chlorophyllreichen Spirogyren wird nur der Kern an plasmochisirten und plasmolytischen Zellen meistens durch die grünen Massen völlig verdeckt. Auch die Gipskrystalle erschweren in manchen Arten seine Erkennung in hohem Maasse.

Eine Lösung von 1 : 5000000 scheint zunächst überhaupt keine Wirkung zu äussern, da die Fäden nach 24 Stunden noch

unverändert aussehen. Die fortgesetzte Beobachtung ergab aber, dass nach einiger Zeit (etwa 5—6 Tagen) die Spirogyren in einer Form zu Grunde gingen, wie sie in Culturen häufiger beobachtet wird, an den Controleen aber nicht oft gefunden wurde. Es zeigte sich, dass die Spiralbänder atrophisch wurden und in kleine Bröckel zerfielen, ähnlich, wie dies gelegentlich einmal bei Quecksilberwasser auch beobachtet wurde. Nach längerer Zeit trat Entfärbung ein und die Zellen starben in gewöhnlicher Weise (s. Fig. 10).

Auf die Bedeutung dieser Versuchsreihe für die Bewerthung der oligodynamischen Erscheinungen gegenüber den chemisch giftigen Wirkungen werden wir noch später zurückzukommen haben.

V. Versuche mit destillirtem Wasser.

Das käufliche destillierte Wasser hatte sich als oligodynamisch wirksam erwiesen, obwohl in der Fabrik angestellte Versuche an grösseren Quantitäten desselben keinen Kupfergehalt erwiesen und die bei dem frisch hergestellten Wasser bemerkbare saure Reaction sich nach etwa 3 Tagen verloren hatte. Dennoch erscheint, neben anderen Möglichkeiten, es nicht ausgeschlossen, dass durch kleine Porositäten der Verzinnung thatsächlich etwas Kupfer sich dem Wasser beigemengt habe. Wir gingen daher daran, uns Wasser selbst zu destilliren im chemischen Laboratorium des Pathologischen Instituts, dessen Vorstand, Herrn Prof. Salkowski, wir für seine liebenswürdige Förderung zu grossem Danke verpflichtet sind. Es glückte uns da, destillirtes Wasser zu erhalten, welches, von Glas in Glas hergestellt, sich als vollkommen indifferent gegenüber den eingebrachten Spirogyren erwies. Die letzteren hielten sich 10 Tage und länger in den Schalenversuchen, ohne Schädigungen aufzuweisen. Dennoch kamen, ohne dass wir uns zunächst eine Erklärung dafür schaffen konnten, Fehlversuche leicht vor. Subtilste Reinigung der benutzten Gläser und Kühler konnte nicht verhindern, dass unter einer grösseren Zahl von Destillationen einige Fehlschläge zu verzeichnen waren, indem das Destillat oligodynamisch wirkte; es stellte sich heraus, das ihm ein geringer Geruch von Indol, von früherer Benutzung der Glasapparate herrührend, anhaftete,

und es erschien daher möglich, dass trotz aller Vorsicht noch eine minimale Verunreinigung des Wassers stattfand, die jedoch in der Mehrzahl der Fälle nicht ausreichte, um oligodynamische Erscheinungen hervorzurufen. Sehr viel auffälliger war dagegen ein Ergebniss, welches wir erzielten, als wir, da uns Platinapparate nicht zur Verfügung standen, einen ganz neuen Kühler und neue Gläser verwandten.

1.

In dem auf diese Weise destillirten Wasser blieb Kupferblech (3mal 100 ccm auf 300 ccm Wasser) 24 Stunden liegen. Von diesem Wasser wurden je 100 ccm in neue, gründlich gereinigte Schalen gegossen und Spirogyren hineingebracht. Von Zeit zu Zeit wurden Proben entnommen, aber noch nach 24 Stunden war keine Veränderung an ihnen eingetreten, das Wasser also nicht oligodynamisch geworden. Wurde nun wieder Kupferblech in eine der Schalen zu den Spirogyren gebracht, so starben dieselben nach kurzer Zeit unter Eintritt von Plasmoschise, während die Controle intact geblieben war.

2.

Von demselben Destillat wurden je 100 ccm mit Kupferfolie und Spirogyren gleichzeitig aufgestellt und es trat in der von früher gewohnten Weise Plasmoschise, später Plasmolyse ein.

Diese Versuche wurden oft wiederholt, und es kam von Zeit zu Zeit, ohne dass ein Grund ermittelt werden konnte, zu Fehlversuchen, indem das an sich indifferente Wasser, auch ohne dass Spirogyren und Kupfer gleichzeitig eingebracht wurden, durch das Kupfer allein oligodynamisch wurde. Als höchst auffälliges Ergebniss dieser Versuche ist trotzdem festzuhalten, dass gewisse Destillate durch Kupferfolie nicht oligodynamisch gemacht werden konnten, sondern dass dem Wasser ausserdem noch Spirogyren hinzugefügt werden mussten, um es oligodynamisch wirksam zu machen; was bei gleichzeitiger Einbringung von Kupfer und Spirogyren ohne Weiteres eintrat.

Es ist wohl zu beachten, dass hier ein Unterschied besteht zwischen von Glas zu Glas destillirtem Wasser, das, wie dies schon von Cramer (a. a. O. S. 45) nachgewiesen ist, oligodynamisch unwirksam ist, und solchem, welches gleichfalls an sich unwirksam, aber auch durch Kupfer nicht oligodynamisch wirksam gemacht werden konnte. So sicher destillirtes Wasser der ersten Art durch Destillation von Glas in Glas zu erhalten ist,

so schwierig erwies sich die Herstellung der zweiten Art, da wir einen Grund für die zwischen gelungenen Destillationen immer wieder eintretenden Fehlschläge nicht auffinden konnten. Es liegt nahe, daran zu denken, dass geringfügige Beimengungen für das Zustandekommen der Oligodynamie nothwendig sind und dass bei ihrem völligem Fehlen auch die geringfügige Lösung von Kupfer nicht eintritt, die durch Leitungswasser und oft auch durch auf Glas abgezogenes destillirtes Wasser zu Stande kommt. Welcher Art die Beimengung ist, ob hierfür organische Substanz wesentlich ist oder ob auch anorganische Stoffe dies bewirken können und welcher Art sie sind, muss einstweilen unentschieden bleiben; die weitere Verfolgung dieser Versuche aber dürfte eine interessante Aufgabe sein.

B. Versuche an Bacteriaceen.

Da die Ergebnisse der Versuche an Spirogyren einen grossen Einfluss der Zellmembran auf den zeitlichen Ablauf der Veränderungen wahrscheinlich machten, so wurden weitere Versuche an Bacteriaceen, insbesondere an solchen angestellt, an denen das Protoplasma in Gestalt von Geisseln frei an die Oberfläche tritt. Es wurden bei dem praktischen Interesse, welches eine ausreichende desinficirende Wirkung der dünnen Metalllösungen haben würde, vor Allem Darmbewohner gewählt und die Versuche zunächst mit *Bac. typhi abdom.*, *Bact. coli comm.* und *Choleravibronen* angestellt.

I. *Bac. typh. abdom.*

1.

Zuerst wurden kleine Mengen in eine relativ reichliche Menge von Kupferwasser (3 mal 10 cm Kupferfolie 24 Stunden in 300 ccm Leitungswasser) gebracht. In 9 Reagenzgläser wurde je 1 ccm Kupferwasser und hierzu eine Oehse 2 tägiger Bouilloncultur gegeben. Nach 24 Stunden Stehen bei Zimmertemperatur wurde der Inhalt jedes Glases gründlich mit 5 ccm verflüssigter Nährgelatine gemischt, zu einer Platte ausgegossen bei Zimmertemperatur gehalten. Die Platten waren noch nach 48 Stunden völlig steril, während in 3 Controlen, wo statt des Kupferwassers sterilisiertes Leitungswasser verwandt war, nach 24 Stunden reichliche Entwicklung von Typhusbacillen constatirt wurde.

2.

Derselbe Versuch mit der Abweichung, dass die mit Bac. typhi geimpften Gläser nach 6 Stunden zu Platten gegossen wurden, hatte dasselbe Resultat.

Versuche 1 und 2 wurden mehrere Male wiederholt, auch mit der Modification durch Einlegen von kleinen Kupferstreifen in Reagirgläser mit 1 ccm Leitungswasser. Vor der Impfung wurden die Kupferstreifen herausgenommen.

3.

Versuchsanordnung wie 1 und 2; Platten nach 4 Stunden. An den Gläsern mit Kupferwasser und in den Controllen das gleiche Ergebniss wie oben.

4.

Versuchsanordnung wie in den vorhergehenden; Einwirkung des Kupferwassers 3 Stunden, mit gleichem Resultat.

Auch 3 und 4 mehrere Male wiederholt.

5.

Einwirkung des Kupferwassers 2 Stunden; vollständig sterile Platten, während die Controllen sehr reichlich gewachsen waren.

6.

Einwirkung des Kupferwassers 1 Stunde. Nach 36 Stunden 4—8 Colonien auf jeder Platte, während die Controllen so reichliches Wachsthum zeigten, dass die Platten ganz bedeckt waren.

7.

Einwirkung des Kupferwassers $\frac{1}{2}$ Stunde. Nach 24 Stunden noch kein Wachsthum auf den Platten zu bemerken, nach 36 eine ziemliche Anzahl von Colonien, die nach 48 Stunden noch zugenommen haben, dennoch ein erheblicher Unterschied gegenüber den Controllen. Bei allen Wiederholungen trat eine bedeutende Einwirkung des Kupferwassers hervor.

II. Bac. coli commune.

Versuchsanordnung wie oben. Kupfereinwirkung 24, 10, 8, 6, 5, 4, 3 Stunden ergab völlige Tödtung. Auf Platten, deren Aussaat 2 Stunden mit dem Kupferwasser gestanden hatte, nach 36 Stunden etwas gewachsen, dennoch in allen Wiederholungen bedeutender Unterschied gegenüber den Controllen.

Bei einstündiger und $\frac{1}{2}$ stündiger Einwirkung war auf den Platten nach 24 Stunden bereits ein sehr gerinfügiges Wachsthum zu constatiren, aber auch nach 48 Stunden noch lange nicht so viel gewachsen, wie auf den Controllen.

III. Spirill. cholerae asiat.

Gleiche Versuchsanordnung wie oben. Nach 24, 6, 5, 4, 3 Stunden alle Keime getötet. Bei 2 stündiger Einwirkung wurden auf den Platten nach 48 Stunden 6—7 Colonien gezählt, während die Controlen verflüssigt waren. Wiederholungen zeigten nur wenig geändertes Resultat. Einstündige Einwirkung hielt das Wachsthum, wie in den Versuchen mit Bac. coli noch sehr bedeutend zurück; noch nach 4 Tagen war die Wirkung eine sehr auffällige.

Halbstündige Einwirkung ergab eine etwas geringere Verminderung als in dem voraufgehenden Versuche, immerhin war auch nach 4 Tagen die Platte nicht verflüssigt.

Bei dem grossen Einfluss, den Temperaturerhöhung sowohl auf die Färbbarkeit der Bakterien, wie auf die Einwirkung der Desinfectionsmittel hat, erschien es uns möglich, dass die Anwendung warmen Kupferwassers noch zu einer Verkürzung der für den Eintritt des Todes erforderlichen Zeit führen würde. Thatsächlich ergaben dann auch Versuche, welche wir mit den gleichen Bakterienarten anstellten, dass bei Erwärmung auf 35—40° das Kupferwasser bereits nach einer Stunde dasselbe Resultat erreicht, welches wir bei Zimmertemperaturen in 2 Stunden erzielten.

Die Versuche wurden wiederholt in der Weise angestellt, dass je 3 Reagirgläser mit je 1 ccm erwärmteten Kupferwassers mit der früher angewandten Dosis Bouilloncultur geimpft wurden. Die Gläser wurden gleichzeitig in den Thermostaten (38°) gebracht und nach 20, 45 und 60 Minuten zu Gelatineplatten verarbeitet.

1.

Das Ergebniss war bei Bac. typhi, dass die einstündigen Platten noch nach 5 Tagen steril waren, während auf den Platten von 45 Minuten erst am 4. Tage sehr geringes Wachsthum constatirt wurde. Auf den Proben von 20 Minuten war bereits nach 24 Stunden sehr wenig gewachsen, während die Controlen schon dichtes und vorgeschriftenes Wachsthum aufwiesen.

2.

Cholerabacillen zeigten sich etwas empfindlicher; hier blieben auch die Proben von 45 Minuten dauernd steril, während auf den Platten von 20 Minuten erst nach 36 Stunden geringes Wachsthum zu bemerken war; die Controlen waren nach 24 Stunden sehr reichlich aufgegangen.

3.

Das Ergebniss bei Bact. coli war das gleiche; die Controlen waren nach 36 Stunden verflüssigt.

Die Resultate stehen demnach in Uebereinstimmung mit den Erfahrungen bezüglich der Wärmewirkung bei der Färbung und der Desinfection und zeigen im Gegensatz zu den Ergebnissen v. Nägelei's an Spirogyren grosse Constanze. Die Unsicherheit der Wirkung höherer Temperatur (bis 40°) bei Spirogyren ist Nägelei geneigt auf den Einfluss verschiedenartiger Vegetationszustände zu schieben. Bei der grossen Anzahl der in dem Einzelversuche zur Prüfung kommenden Bakterien muss ein solcher Einfluss naturgemäss sich ausgleichen, da es selbstverständlich ist, dass sich die Einzelindividuen in verschiedenen Phasen ihrer Entwicklung befinden.

Diesen Versuchen waren Beobachtungen im hängenden Tropfen auf dem Selenka-Schultze'schen Objectträger voraufgegangen, in der Voraussetzung, dass die Schädigung der Mikroben sich durch Aufhören der Bewegungen äussern müsste. Es zeigt sich nun allerdings ein allmähliches Erlöschen der Geisselthätigkeit, aber erst nach 3 Stunden war die Wirkung eine auffällige, noch nach 24 Stunden wurden vereinzelt bewegliche Mikroben wahrgenommen. Die Versuche erwiesen sich in hohem Maasse abhängig von der Menge der aus den Reinculturen eingebrachten Organismen. Bei Verdünnungen trat das Aufhören der Contractionen sehr schnell ein. Besonders empfindlich erwies sich ein Spirillum, das in Strohinfus gewachsen, je nach seinem Mengenverhältniss zum Kupferwasser nach wenig Secunden bis zu 5 oder 10 Minuten völlig still lag. Es muss diese Erscheinung in der Weise erklärt werden, wie dies Nägelei angiebt bezüglich der Aufhebung der oligodynamischen Wirksamkeit durch grosse Mengen von Algen oder Zusatz von indifferenten Stoffen (s. oben S. 296).

Die Reagenzglasversuche ergaben dagegen, dass Einwirkung des Kupferwassers von 2 Stunden und darüber bei der gewählten Versuchsanordnung (1 Oehse zu 1 ccm Wasser) die wichtigsten Darmmikroben mit Sicherheit tödete, während bei kürzerer Einwirkung das Ergebniss kein vollständiges mehr war. Es wäre zu erwägen, ob, vorerst durch Thierversuche, eine praktische Verwerthung dieser Resultate für die Darmdesinfection möglich wäre. Jedenfalls dürfte die geringe Menge des Kupfers, welche hinter den in Nahrungsmitteln ohne Schaden genossenen Quan-

titäten weit zurücksteht, für den thierischen Organismus nicht von besonders schädlicher Wirkung sein. Die nothwendigerweise sehr grossen Flüssigkeitsmengen könnten allerdings für die praktische Ausführung unüberwindliche Schwierigkeiten darbieten.

Wenn wir auch nicht unterliessen, gelegentlich in unsere Hände gelangendes, anderes pflanzliches Material bezüglich seines Verhaltens gegen Kupferwasser zu prüfen, so konnten wir methodische Untersuchungen doch nur an Spirogyren und Bacteriaceen durchführen. Myxomycetenplasmodien, die wir gern verwandt hätten, waren von geeigneten Arten nicht zu erlangen; ebenso mussten wir uns versagen, noch auf Saprolegniae en und die Wurzelhaare von Phanerogamen einzugehen, deren chlorophyllfreier Protoplast ein verlockendes Object ist.

C. Versuche an Rhizopoden, Flagellaten und Ciliaten.

Die Schwierigkeit, geeignetes Material in der Grossstadt zu erlangen, führte es herbei, dass, abgesehen von einigen gelegentlich Beobachtungen an anderen Rhizopoden, nur Amoeba quarta und Diffuzia oblonga einer geordneten Untersuchung unterzogen werden konnten und auch die Zahl der anderen Protozoenarten nur eine beschränkte bleiben musste. Für seine freundliche Unterstützung bei der Gewinnung dieses Materials, sowie für die systematische Bestimmung der in der folgenden Versuchsreihe verwandten Protozoen sind wir Herrn Dr. Schaudinn, Assistenten am Zoolog. Institut zu vielem Dank verpflichtet.

1.

Die Amöben wurden mit dem Deckglase, auf dem sie sich angesetzt hatten, nach möglichster Entfernung des überschüssigen Wassers in ein Schälchen mit Kupferwasser gebracht. Es zeigte sich, dass sie ausgestreckte Pseudopodien schnell einzogen und nach 2—3 Minuten sämmtlich Kugelform angenommen hatten. Versuche, das Kupferwasser durch reines Wasser zu ersetzen, hatten die Vortreibung von Pseudopodien nicht mehr zur Folge.

2.

Diffugia oblonga, in eine Schale mit Kupferwasser gebracht, zeigt nach wenigen Minuten Aufhören der Pseudopodiencontraction, das Protoplasma liegt formlos vor der Schale.

3.

Haematococcus pluvialis. Die beiden durch die Schale hervortretenden Geisseln bewegen sich langsamer wenige (etwa 2) Minuten, nach-

dem das Kupferwasser einwirken konnte, in Folge dessen auch die Locomotion langsamer wird und schliesslich (nach etwa 5 Minuten) ganz aufhört. Die Geisseln erscheinen dann kürzer und etwas breiter, auch etwas weniger lichtbrechend, sind aber, da bewegungslos, recht deutlich zu sehen. Nach längerer Zeit (2—3 Stunden) wird der eiförmige Körper mehr kuglig und erscheint auch etwas grösser.

4.

Paramaecium Bursaria. Die Bewegungen hörten an einem Theil der Exemplare schon nach 5 Minuten auf, während andere mehrere Stunden umherschwammen. An den still liegenden Exemplaren war das Wimperkleid sichtbar. Später erscheinen die Paramaecien ein wenig in ihrer Form verändert, etwas dicker, immer aber doch mehr oder weniger eiförmig. Gegen Silberwasser erwies sich P. ganz unempfindlich.

5.

Spirostomum ambiguum (Ehrbg.). Wenn man diese Infusorien in Kupferwasser bringt oder Kupferfolie in das Wasser bringt, so geben sie schon nach 3—4 Minuten zu Grunde. Ihre Bewegungen hören auf, sie ziehen sich zusammen und werden kuglig.

6.

Vorticella microstoma. Die oft an Spirogyren angehefteten Vorticellen erweisen sich viel weniger empfindlich, als die Algen, die stets vor ihnen zu Grunde gehen. Nach 3—4 Stunden bleiben aber auch sie bewegungslos, der Stiel wird sehr kurz und bleibt im zusammengezogenen Zustande, indess die Glocke kuglig wird und schlaff an dem kurzen Faden hängt.

7.

Stylonychia mytilus. Dieses Infusor verhielt sich nicht immer gleichartig im Kupferwasser. Während die Exemplare bisweilen nach 2—3 Stunden sämmtlich leblos erschienen, so war in anderen Versuchen, wenn auch selten, noch nach 24 Stunden die Bewegung erhalten; sie war in diesen Fällen allerdings bedeutend verlangsamt.

Aus diesem beschränkten Material geht dennoch hervor, dass, wenn auch in verschiedener Zeit, alle untersuchten Arten durch das Kupferwasser getötet wurden, eine Giftwirkung, die derjenigen, die in den oligodynamischen Erscheinungen an den Spirogyren hervortritt, zeitlich durchaus parallel geht; wenn auch in der Form im Wesentlichen anders, entsprechend den grossen morphologischen Differenzen zwischen der mit Cellulosemembran und reichlichem Zellsaft versehenen Pflanzenzelle und dem membranlosen Rhizopodenplasma und den geisselführenden Ciliaten und Flagellaten, so ist doch der früher oder später unter evidenten Lähmungserscheinungen eintretende Tod in Folge der Berührung mit dem gekupferten Wasser allen gemeinsam. Die

zeitlichen Unterschiede welche im Hervortreten der Giftwirkung constatirt werden, weisen auf Differenzen in der Fähigkeit, der schädlichen Wirkung zu widerstehen, hin, die wir nicht aufklären können. Da auch bei Individuen derselben Art solche Differenzen beobachtet wurden, so ist die Vermuthung naheliegend, dass vegetative Vorgänge hierbei von Belang sind; in hohem Maasse empfindlich ist auch das Protoplasma derjenigen Arten, welche am längsten den minimalen Kupfermengen, die hier in Betracht kommen, widerstehen.

Die todten Protozoen erscheinen ganz überwiegend kuglig oder der Kugelform genähert und ganz ohne sichtbare Veränderungen, es sei denn Verkürzung der Geisseln und ein geringe Aenderung ihres Lichtbrechungsvermögens, ein Zustand der im Wesentlichen mit demjenigen der vorübergehenden Lähmung übereinstimmt. Selten trat eine Ablösung des protoplasmatischen Inhaltes von der zarten Körperhülle ein. Bei früheren Versuchen mit Methylenblau, welches in dünner hellblauer Lösung zugesetzt wurde, wurde eine solche Trennung nach Zurückziehen der Cilien bei Holophrya, Lieberkühnia und Paramaecium öfter beobachtet. Es muss dahingestellt bleiben, ob Aenderung des Molekularzustandes oder ein contractorischer Reiz (s. unten S. 332) die Ursache dieser Erscheinung ist, welche der Plasmoschise an die Seite gestellt werden muss.

Chemotaktische Wirkung des Kupferwassers.

Bei der höchst deletären Wirkung, welche das gekupferte Wasser auf das Protoplasma der verschiedenen Mikroorganismen ausübt, schien die Frage berechtigt, in wie weit ihm eine bewegungsrichtende Einwirkung auf aktiv bewegliche Organismen zukomme. Unsere Versuche waren naturgemäss beschränkt, da sie nicht in directem Zusammenhang mit den oligodynamischen Erscheinungen standen; wir stellten sie an Bac. typhi, Bac. coli und Cholerspirillen, an einer im Strohinfus mit Paramaecien gewachsenen grösseren Spirillenart, an Paramaecium und an den Spermatozoen eines Farnkrautes an, dessen Prothallien wir der Freundlichkeit des Herrn Dr. Kolkwitz verdankten.

Methodisch gingen wir so vor, dass wir, entsprechend der gebräuchlichen Versuchsanordnung, zur gegenseitigen Controle ein-

mal das Kupferwasser, das andere Mal die zur Prüfung kommenden Mikroorganismen in die Capillaren brachten. Es erwies sich als zweckmässig, lange Capillaren (15—20 cm) mit den betreffenden Flüssigkeiten zu füllen und dann die für die Einzelversuche erforderlichen kurzen Stücke (etwa 3 cm) davon abzuschneiden. Ein Ende der Capillaren wurde durch Eintauchen in Paraffin luftdicht geschlossen, ohne dass zugleich Luft mit eingeschlossen wurde. Ein bisweilen sehr bequemes Verfahren, welches namentlich bei sehr kleinen Organismen (Bakterien) noch geeignet erscheint, ein Resultat zu ergeben, besteht in der Anwendung einer etwa 12 cm langen Capillare, in die erst eine Säule von Organismeninfus, dann, ohne dass eine Luftblase dazwischen tritt, Kupferwasser eingelassen wird. An der Grenze beider Flüssigkeiten bilden sich dann, im Falle dass positiver Chemotropismus vorliegt, dichte ppropfartige Anhäufungen. Bei den auf diese Weise angestellten Versuchen, zeigten die Spirillen und Paramaecien des Strohinfuses positiven Chemotropismus, während das Kupferwasser auf die in Bouillonculturen gezogenen Bakterien keine chemotaktische Wirkung äusserte. Unser Verdacht, dass die saure Reaction des Strohinfuses für die positive Neigung der in ihr gewachsenen Mikroben von Belang sein könnte, wurde durch den Versuch nicht bestätigt; auch nach der Neutralisirung zeigte sich dasselbe Ergebniss, ebenso wie sich die Indifferenz der auf schwach alkalischer Bouillon gewachsenen Bakterien nach Neutralisirung nicht änderte. Es muss demnach das ermittelte Verhalten der untersuchten Mikroorganismen dem Kupferwasser gegenüber als einer wesentlichen Eigenschaft ihres Protoplasma entsprechend angesehen werden.

Wenn wir jetzt daran gehen, die Ergebnisse der mitgetheilten Versuche zusammenzufassen, so zeigt sich, dass minimale Mengen von Metallen und Metallsalzen, insbesondere Kupfer, dem Wasser zugefügt, an darin lebenden niederen Organismen die schwersten Störungen hervorrufen.

Die gelösten Quantitäten sind so geringfügig, dass sie nur in grösseren Mengen Wassers chemisch nachgewiesen werden können, während jeder Tropfen desselben die schädigende Wirkung auszuüben im Stande ist. Physikalisch noch nicht aufgeklärt

sind die Beobachtungen an destillirtem Wasser, welches, wie von v. Nägeli festgestellt, häufig Schädigungen des Protoplasma der Spirogyren hervorruft, während Cramer mit durchweg auf Glas destillirtem Wasser solche nicht mehr erhielt. Wasser der letzteren Art, welches nicht mehr Spirogyren schädigte, konnte, wenn auch bei weitem nicht ausnahmslos, durch Berührung mit Kupfer allein nicht wirksam gemacht werden; es ist oben S. 320 dargelegt worden, dass es sich hierbei wohl um die Concurrenz minimaler uncontrolirbarer Beimengungen handelt. Als Aeusserungen einer besonderen, bisher unbekannten Kraft sind jedoch die Erscheinungen, welche durch die in den Versuchen vorhandenen geringfügigen Giftmengen hervorgebracht werden, nicht anzusehen. Vielmehr zeigt die Reihe der Uebergänge, die durch Sublimatlösungen in fortschreitender Verdünnung bis zu dem späten Erkranken der Spirogyren hervorgebracht wurden, dass auch die „oligodynamischen Erscheinungen“ in der Reihe der chemischen Wirkungen ihren Platz haben. Auch bezüglich des Kupfers ergaben weitere Verdünnungen oligodynamisch wirksamen Wassers, dass noch hundertfünfzig Mal geringere Kupfermengen das Protoplasma zu tödten im Stande seien, wobei wiederum die Erscheinung eine andere ist, als bei den oligodynamischen Ergebnissen.

Aus der Nothwendigkeit, in manchen Versuchen grössere Mengen gekupferten Wassers zu verwenden, muss geschlossen werden, dass die lebende Substanz dem Wasser die geringe Menge gelösten Kupfers leicht entzieht und eine festere chemische Verbindung mit dem Metall eingeht, die den Fortbestand des vitalen Stoffwechsels ausschliesst. Die Veränderungen, die an den mit solchem Wasser behandelten Pflanzen auftreten, sind theils Erscheinungen des Sterbens, theils cadaveröse, d. h. an dem gestorbenen Protoplasma eintretende.

An Spirogyrazellen werden durch derartig actives Wasser Veränderungen hervorgebracht, die in ihrer Form von den bis dahin an ihnen beoachteten Giftwirkungen abweichen und deshalb von v. Nägeli als „oligodynamische Erscheinungen“ bezeichnet wurden. Das Wesentliche derselben war nach v. Nägeli eine Ablösung der Chlorophyllbänder von dem Proto-

plasten, ein Krankheitsvorgang der allmählich zum Tode der Zellen führt. Im Gegensatz hierzu fanden wir, dass nicht eine Ablösung der Chlorophyllbänder vorliegt, sondern eine Spaltung des Protoplasten stattfindet, dessen innerer Theil sich mit den Chloroplasten von dem äusseren Theil zurückzieht; die auch von Nägeli gesehenen Plasmafäden (s. Fig. 8) verbinden nicht allein die Chlorophyllbänder mit dem Plasmashlauch, sondern sind zwischen den getrennten Schichten des Protoplasten ausgezogene Plasmatheile; außerdem aber vermögen wir in der Retraction der Chlorophyllbänder und der anhaftenden Protoplastenschicht keine Krankheitserscheinung anzuerkennen, sondern müssen in derselben den Ausdruck des bereits eingetretenen Todes des Chlorophyllkörpers wie des Protoplasmashlauches sehen. Es gelang uns nie, irgendwelche Strömung des Protoplasma an den betroffenen Theilen der Zelle wahrzunehmen, vielmehr konnte das Aufhören derselben in messbarer Zeit vor dem Eintritt der Ablösung fast in allen Versuchen constatirt werden. Eine Restitution nach Uebertragung der affirirten Organismen in unwirksames Wasser wurde nicht erreicht, das Aufhören der Strömung war ein definitives.

Es zeigt sich auch hier, dass das hierdurch als todt nachgewiesene Protoplasma diejenige Form einzunehmen strebt, welche nach den grundlegenden Untersuchungen von Max Schultze und Kühne sowie den vielseitigen Feststellungen Verworn's als die Todesstellung anzusehen ist, die Kugelform. Bei den complicirten topographischen Verhältnissen der Spirogyrazellen muss die Zusammenballung des abgelösten Theiles als eine ausreichende Bestätigung des Gesetzes angesehen werden, dass sterbendes Protoplasma sich auf den kleinsten möglichen Raum zusammenzieht.

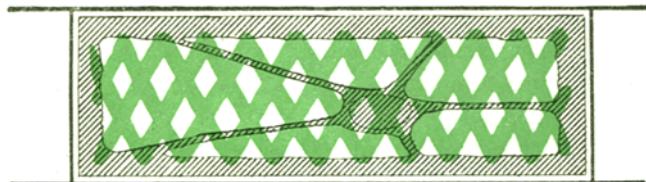
Wahrscheinlich ist es eine agonale Contraction des vergifteten, in seiner Consistenz noch nicht alterirten Protoplasma, sowohl des Cytoplasma wie der Chloroplasten, die in der gelegentlich unter den Augen des Beobachters vor sich gehenden Plasmoschise zum Ausdruck kommt. Letztere ist wenigstens theilweise wohl die Folge einer in der schneller gestorbenen, der Zellhaut anhaftenden Schicht eingetretenen mässigen Consistenzerhöhung, wodurch diese Lage von der Contraction ausgeschlossen, an der

Membran zurückbleibt. Die Erscheinung wäre analog dem aus vielfachen Beobachtungen bekannten Zurückziehen lebenden formlosen Protoplasma von getöteten Abschnitten desselben. Dass die Consistenz der äusseren Protoplasmeschicht erhöht ist, geht aus der Herabsetzung ihrer Verschiebbarkeit hervor, sie erscheint dauernd mit etwas zackiger Rissfläche, außerdem erscheint sie, wie todes Protoplasma überhaupt, stärker gekörnt.

Wenn wir nach unseren Erfahrungen, die Plasmoschise wenigstens theilweise einer agonalen Contraction des bis zu ihrem Eintritt noch lebenden, in Folge des todtbringenden Reizes noch ein letztes Mal gleichzeitig an vielen Stellen mechanisch funktionirenden Protoplasma zuschreiben möchten, so kann dabei die Concurrenz einer nicht mit den Contractionsvorgängen zusammenhängenden Quellung nicht ganz und gar ausgeschlossen werden; vielleicht ist aber eine solche nur von untergeordneter Bedeutung. Es schienen uns nehmlich gelegentlich die Enden der Spiralbänder, so lange die Zusammenballung noch nicht zu einer völligen Entstellung ihrer Form führte, ein wenig verbreitert, mit abgerundeten Ecken. Es ist diese Formänderung aber auch aus den geänderten mechanischen Verhältnissen der im lebenden Zustande gespannten Chromatophoren erklärlich, weil ihre Fixationspunkte sich überall in sehr erheblichem Maasse einander nähern. Die Mitwirkung eines contractorischen Reizes glauben wir aber auch auf Grund noch anderer Beobachtungen in Anspruch nehmen zu müssen.

Wir haben in Fig. 11 das Schema eines axialen Längsschnittes der gesunden Spirogyrazelle und in Fig. 12 das einer durch Plasmoschise betroffenen abgebildet. Im Gegensatz zu der durch stärkere Lösungen Gerinnung erregender Giftstoffe bewirkten Fixation ist hier eine weitgehende Verlagerung der Protoplasten erfolgt. Es entspricht dies im Allgemeinen der Erscheinung, welche durch oligodynamische Lösungen hervorgebracht wird. Bei Verdünnung oligodynamischen Kupferwassers durch das 30fache Volumen neutralen Wassers bis zum 100fachen wurde die Erscheinung so geändert, dass nur die Plasmafäden, durch die der Kern im Centrum der Zelle aufgehängt ist, rissen, wodurch der Kern auf die Seite, näher der Zellwand, gelagert wird. Dies ist unter der Annahme der

Figur 11.



Schema einer normalen Spirogyrazelle.

Figur 12.



Schema der Plasmoschise an einer Spirogyrazelle.

agonalen Contraction wohl verständlich. Wenn wir auch das Abreissen bei diesen Versuchen nicht direct sehen konnten, da es hierzu vielständiger, in hohem Maasse anstrengender Beobachtung bedurfte hätte, so ist doch der an derartig vergifteten Spirogyren sichtbare Zustand durchaus übereinstimmend mit den gleichen, durch dünne Anilinfarben und elektrische Schläge erzielten Veränderungen. Diese sind bei den oben (S. 305) erwähnten Untersuchungen zur vergleichenden Pathologie der Nekrose oft unter den Augen des Beobachters eingetreten. Mit einem sichtbaren „Ruck“ reißt ein Theil der Fäden und der Kern fliegt förmlich auf die Seite. Oft vollzieht sich diese Dislocation auch in zwei oder mehr Tempi, indem die Fäden gruppenweise in sehr kurzen Zwischenräumen innerhalb einer bis zwei Secunden durchreissen. Wo Gipskrystalle vorhanden waren, ordnen sie sich in Folge der Verkürzung der Plasmafäden im Allgemeinen viel dichter um den Kern an, als sie vorher lagen. Auch bei Anwendung kohlensauren Wassers ist bei jenen Untersuchungen diese Erscheinung gesehen worden und muss jetzt auf die nach v. Nägeli „schwach oligodynamischen“ Eigenschaften des dazu verwandten destillirten Wassers zurückgeführt werden. Jedenfalls besteht ein continuirlicher Uebergang von den dem Schema Fig. 12 entsprechenden

plasmoschistischen Zuständen zu dem einfachen Durchreissen der Protoplastfäden. Es würde sich dann der Vorgang so darstellen, dass das in sehr geringer Quantität einwirkende Kupfer in der Wandschicht des Protoplasma zurückgehalten wird, nachdem es dort, chemisch gebunden ist, ohne dort vorher, seiner geringen Menge entsprechend, eine contractorische Erregung hervorgerufen zu haben. Das dann durch Diffusion weiter in das Zellinnere gelangende Kupfer reicht, trotz seiner absolut geringen Menge, nun aber aus, um die gegenüber dem Wandbelag sehr unbedeutende in den einzelnen Fäden vertheilte protoplasmatische Substanz zur Contraction zu veranlassen und so das Abreissen der Fäden herbeizuführen. Dass moleculare Veränderungen, die nicht von einer Erregung des bis dahin lebenden Protoplasten abhängen, gar nicht mitwirkten, soll keineswegs behauptet werden.

Bei noch geringerer Reizwirkung kann der Tod durch chemische Agentien eintreten, ohne dass irgend eine sichtbare Lageänderung an dem Inhalt der Zellen stattfindet. Dies sehen wir vorzugsweise bei Färbung mit Neutralroth. Dieser Farbstoff wurde in Form von kleinen Krystallen¹⁾) oder durch Zusatz eines Tropfens ganz dünner Lösung angewandt. Bei langsamer Einwirkung färben sich feine Körner des Protoplasten, allmählich an Zahl und Intensität zunehmend, an geeigneten Zellen kann man noch nach dem Eintritt der Körnerfärbung die Strömung in den Protoplastfäden wahrnehmen. Bald wird aber auch die nichtgefärbte Substanz so trübe, dass nur in wenigen Fällen der Versuch noch weiter verfolgt werden kann. Indessen hört schliesslich, bevor noch die geringste Färbung an den Fäden bemerkbar wird, auch hier die Strömung auf, während auch der Kern seine Form verliert, kuglig wird und sich in verschiedene Substanzen sondert. Die den Versuch auf's Höchste erschwerende Trübung der ungefärbten Theile des Protoplasten reicht schon allein aus, um seinen Tod zu documentiren, irgend eine Formveränderung an den Theilen des Protoplasten ist aber nicht wahrzunehmen. Auch in diesen Versuchen treten, wie bei denen, die im Wesentlichen nur ein Zerreissen der Zellfäden aufweisen, an einzelnen Zellen, meistens nur auf die Enden beschränkte Zeichen der typischen, sich an das Schema Fig. 12 anschliessenden Plasmoschise auf.

¹⁾ Vergl. O. Israel und Pappenheim, Dieses Archiv. Bd. 143. S. 426.

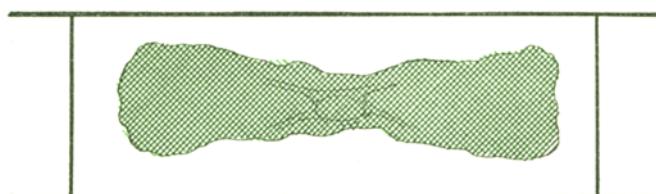
Mag auch hierbei eine früher eintretende molekulare Verschiebung, unabhängig von contractorischen Reizen, in gewissem Maasse betheiligt sein, immerhin sind doch diese frühzeitigen, nur zur Dislocation des Kernes und, wenn überhaupt, zu nur ganz geringfügiger Verzerrung der Chromatophoren führenden Veränderungen von den viel spätereren, zweifellos cadaverösen, durchaus zu trennen. Dass den Deformationen das Aufhören der Plasmaströmung kurze Zeit voraufgeht, braucht nicht nothwendigerweise so gedeutet zu werden, dass eine letzte, agonale Contraction darum nicht stattfinden könne; vielmehr ist es wohl verständlich, dass durch einen stärkeren Reiz noch eine Contraction an dem nicht mehr strömenden Protoplasma ausgelöst wird. Das bei den höchsten Verdünnungen constatirte Ausbleiben jeder Deformation der Protoplasmata, wobei das Aufhören der Strömung und die Aenderung der Kernbeschaffenheit allein den Tod anzeigen, legt für diese Formen die Annahme eines reizlosen Ausgleiches der entstehenden, offenbar sehr geringfügigen Spannungen eben so nahe, wie die Annahme graduell verschiedener contractorischer Reizung bei den höheren Concentrationen der dünnen Giftlösungen.

Die individuellen Differenzen an derselben Spirogyrenart, wie die ziemlich constanten Unterschiede unter den verschiedenen Arten dürften ferner auf Unterschiede der Erregbarkeit hinweisen, wie sie verschiedenem Protoplasma auch in anderen Beziehungen eigen sind. Dass grosse Unterschiede in dem Verhalten des Protoplasma verschiedener Ordnungen bestehen, liegt auf der Hand; so wird bei Nitella durch Kupferwasser nie eine Plasmolschise hervorgerufen, was wohl seinen Grund in der ganz anderen Architectur des Protoplasmata haben kann, während die so überaus lebhafte und extensive, leicht zu beobachtende Strömung des Protoplasma nach einer Einwirkung von wenigen Stunden unfehlbar aufhört und nicht wieder zu beleben ist; das Gleiche ist bei Einwirkung von Neutralroth der Fall.

Ganz anders aber kommt die später, erst im Laufe der folgenden 10—24 Stunden sich vollentwickelnde cadaveröse Plasmolyse an den todteten Spirogyren zu Stande; auch von der artificiellen Plasmolyse, mit der sie morphologisch nur die Ablösung des Protoplasmata von der Zellstoffmembran gemein hat, ist sie durchaus verschieden.

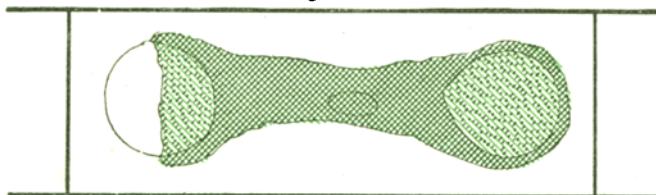
Wie bekannt, wird die durch v. Nägeli, Pringsheim, de Vries, G. Klebs, Pfeffer u. A. erzeugte Plasmolyse durch die Einwirkung von concentrirten Lösungen hervorgebracht, deren osmotisches Aequivalent von jenem der Zellflüssigkeit erheblich abweicht. Durch eine den physikalischen Verhältnissen des Mediums wie des Zellkörpers entsprechende Ausgleichung der osmotischen Spannung kommt eine Gleichgewichtslage zu Stande, in der die weichen Protoplasten von den festeren, bisweilen auch ihrerseits aufgeblähten Zellmembranen abgelöst sind. In gewissen Fällen gelang es, eine Anpassung derart zu erzielen, dass das Leben der Zelle erhalten bleibt und die vegetativen Functionen, wenn auch mit manchen Abweichungen von der Norm, bestehen bleiben (normale Plasmolyse, de Vries, G. Klebs). Häufiger wird jedoch, wohl weniger durch die mechanischen Störungen, als durch chemische Änderungen, bei diesen Versuchen die Zelle getötet (Fig. 13 und 14). Wir können uns

Figur 13.



Schema einer plasmolysirten Spirogyrazelle.

Figur 14.



Dasselbe Schema mit Vacuolen.

nicht der Meinung von de Vries¹⁾ anschliessen, der den in (durch 10 prozentige Kalisalpeterlösung) plasmolysirten Spirogyrazellen sichtbaren Vacuolen eine besondere lebende Wand zuspricht,

¹⁾ Pringsheim's Jahrb. für. wiss. Botanik. XVI. 1885.

weil sich dieselbe scheinbar nicht mit Eosin färbt. Vielmehr ist das gesamme Protoplasma durch die Giftwirkung des Kali-salpeters getötet, in Folge des gleichzeitig zur Wirkung kommenden osmotischen Druckes plasmolysirt und in den getöteten Protoplasmata der Zellsaft durch die Spannung, unter der sich das relativ cohärente tote Albuminat in Folge nachträglicher Flüssigkeitsimbibition befindet, auf den kleinsten möglichen Raum, in die kugelförmigen Vacuolen zusammengepresst. Das oft sichtbare Hervortreten der Vacuolen an den Enden des abgelösten Plasmaschlauches zeigt deutlich, dass der Zellsaft in derartigen Präparaten unter einem relativ hohen, von dem Protoplasten ausgeübten Druck steht. Mit dem vitalen Turgor aber hat dies unseres Erachtens nichts zu thun, da sowohl der Protoplast tot ist, als auch die Wand der Vacuolen, deren refractäres Verhalten gegen Farben entweder nur scheinbar ist, — gegenüber der an Farbe absolut reicherem, dicken Masse des retrahirten Protoplasma erscheinen die dünnen Lagen um die Vacuolen farblos, — oder wenn wirklich vorhanden, auf die chemische Beschaffenheit der in den Vacuolen enthaltenen Substanzen zurückgeführt werden kann. Aus der Unfähigkeit des Eosins, lebendes Protoplasma zu färben, auf das Leben der vom Protoplasma gebildeten Oberfläche der Vacuolen zu schliessen, scheint bei nachgewiesenem Tode des Protoplasten nicht zulässig. Es würde sich also bei der Vacuolenbildung in Spirogyren um cadaveröse Vorgänge in allen den Fällen handeln, in welchen der Protoplast durch eine in geeigneter Concentration giftig wirkende Substanz plasmolysirt ist. Dass de Vries die Vacuolencontraction bei Weitem nicht so häufig in Begleitung der durch langsam diffundirende Stoffe (Trauben- und Rohrzucker, Glycerin) hervorgebrachten „normalen“ Plasmolyse gesehen hat, spricht gleichfalls für eine in Folge der Giftwirkung erhöhte Cohäsion des toten Protoplasma, gegenüber dem lebenden; die Annahme einer solchen ist aber auch erforderlich, um das Bestehenbleiben der dünnen protoplasmatischen Hüllen der hervorgepressten Vacuolen zu verstehen.

Erst nach Abschluss der vorliegenden Untersuchungen kam die inhaltreiche Abhandlung von P. Klemm, „Desorganisationserscheinungen der Zelle“¹⁾, zu unserer Kenntniss. Dieselbe weist

¹⁾ Pringsheim's Jahrb. für wiss. Bot. Bd. XXVIII. 1895. S. 627 f.

viele Berührungs punkte auf mit dem im vorstehenden behandelten Thema, und wir können uns namentlich dem, was er über die Bildung von Vacuolen und Protoplasmaschaum beim Sterben von Pflanzenzellen durch gewaltsame Mittel angiebt, in den wesentlichen Punkten ganz anschliessen. Dass der Verlust des Turgors ein Zeichen des Todes ist, ist wohl zweifellos, nach unseren Untersuchungen aber muss sein scheinbares Erhaltenbleiben bei durch die dünnsten Giftlösungen reizlos getöteten Spirogyren ein Anlass sein, sein Fortbestehen nicht als ein sicheres Zeichen des Lebens zu betrachten, wie dies von Th. Bokorný¹⁾ geschieht. Obwohl Klemm seine Untersuchungen an ganz anderen, und zwar chlorophyllfreien Objecten angestellt hat, so stimmen doch unsere Ergebnisse durchaus zu dem, was er über die inneren Veränderungen des Protoplasma angiebt, wie über die Kernabweichungen, insbesondere die durch elektrische Inductionsschläge erzielten. Auf dieselben soll in einer anderen Arbeit eingegangen werden, da die meisten Spirogyren auch für diese Versuche gerade ein besonders geeignetes Object sind. Auf die Wirkung oligodynamischer und noch dünnerer Lösungen ist Klemm nicht eingegangen, obwohl ihm die Anstellung solcher Versuche als eine wünschenswerthe Ergänzung der vorhandenen Kenntnisse erscheint (a. a. O. S. 674).

Von der normalen wie der anomalen Plasmolyse ist aber die cadaveröse nach ihrer Erscheinung ein wenig, ihrem Wesen nach aber durchaus verschieden. Das geht nicht nur aus ihrem zeitlich von der Einwirkung des anders gearteteten Mediums weit getrennten Eintreten hervor, sondern auch aus ihrer Form. Nicht Zusammenballung, sondern unregelmässige Schrumpfung ist das hervorstechendste Merkmal des von ihr betroffenen Anteils der Protoplasmastoffe; die räumliche Verschiebung steht meistens auch weit hinter derjenigen zurück, die der plasmoschistisch abgelöste Theil erfährt. Die vorher gleichmässig ausgebreitete, feinkörnig erstarrte, der Zellmembran noch anhaftende Schicht verliert nachträglich an Volumen, sie wird eine dünne, trotz ihrer Coagulation schlaffe Membran, die im optischen Querschnitt, wie in den Flächenansichten unregelmässig gefaltet erscheint. Es tritt hier an

¹⁾ Ueber die Einwirkung basischer Stoffe auf das lebende Protoplasma. Pringsheim's Jahrb. für wiss. Bot. Bd. XIX. S. 206 f.

einer in morphologischer Beziehung einfachen Zellenleiche etwas Analoges ein, wie es bei der Nekrose thierischer Zellen in Form der Inspissation sehr lange bekannt ist. Es ist dieselbe „Eindichtung und Eindickung“, welcher Virchow schon vor mehr als 30 Jahren die weiteste Verbreitung im menschlichen Körper vindicirte, und die an todten Theilen eiweissartiger Beschaffenheit vorkommt. In einer früheren Arbeit konnte der eine von uns nachweisen, dass bei dieser Eindichtung Theile des Zellenleibes ausgelaugt werden, die, in den Körpersäften löslich, aus dem todten Zellmaterial verschwinden. Durch Anwendung der Altmann'schen Granulafärbung gelang es festzustellen, was seitdem mehrfach bestätigt wurde, dass sowohl die Granula aus flüssiger Substanz bestehen, als sie sich auch aus der, nur in gewissen Grenzen nachgiebigen Grundmasse entfernen¹⁾; da die Grundmasse sich in dem Maasse wie die Körner verschwinden, verkleinert, so liegt es unter Berücksichtigung der bei der cadaverösen Plasmolyse des Spirogyren-Protoplasma, wo kein Druck seitens der Nachbarschaft in Frage kommt, gemachten Erfahrungen nahe, an ein Auspressen der in dem todten Eiweisskörper eingeschlossenen, wenn auch selber eiweissartigen, aber mit diesem nicht vermiscbaren Substanz zu denken. Dies könnte nur unter dem Druck einer Zusammenziehung erfolgen, welche nicht, wie die Contraction des lebenden Protoplasma, Folge eines diese Kraftleistung auslösenden adäquaten Reizes ist, sondern der Ausgleichung einer bei der tödtlichen Veränderung des Chemismus des bis dahin lebenden Protoplasma gesetzten physikalischen Spannung entspricht. Die physikalischen Eigenschaften der Eiweisskörper sind leider noch viel zu wenig systematisch erforscht, als dass ein tieferer Einblick in die Genese dieser Schrumpfung des todten Albuminates möglich wäre; bis dahin müssen wir uns genügen lassen, auf analoge Erscheinungen hinzuweisen, wie sie beispielsweise in der Schrumpfung des Blutkuchens beim Aderlassblut und nach der Labgerinnung, sowie in den anscheinend spontanen Veränderungen uns entgegentreten, welche bei manchen organischen und anorganischen Niederschlägen nachträglich eintreten. Eine nähere Kenntniss der physikalischen Verhältnisse, besonders

¹⁾ Vergl. dieses Archiv. B. 123. S. 330.

der Eiweisskörper, würde für die Beurtheilung der erörterten Erscheinungen sehr wünschenswerth sein.

Wenn wir jetzt die Vergiftungsercheinungen an Spirogyren, wie sie aus den Experimenten von v. Nägeli, de Vries, Klebs und aus unseren oben dargestellten Versuchen hervorgehen, zu gruppiren suchen, so lassen sich im Wesentlichen vier Hauptformen der Zustände tödtlicher Vergiftung des Protoplasten hervorheben.

1. Fixation der Zelle: Das Protoplasma und wahrscheinlich auch die Chromatophoren sind fest coagulirt, auch im Zellsaft finden sich meistentheils Niederschläge (Wirkung starker Gifte in relativ hochgestellten Lösungen).

2. Plasmolyse: Ablösung des Protoplasten von der Zellstoffmembran mit Erhöhung seiner Cohäsion und Vacuolisirung (Wirkung concentrirter Lösungen, auch schwachgiftiger, bezw. in dünner Lösung ungiftiger Substanzen).

3. Plasmoschise: Spaltung des Proplasten, Zerreissen der Protoplasmastränge, Zusammenballung der Chromatophoren. Nur partielle Gerinnung, die Consistenz des Protoplasten wie der Chlorophyllbänder nur wenig erhöht, fast nur auf die Aufhebung der natürlichen Verschieblichkeit beschränkt (oligodynamische und dünnere Giftlösungen).

4. Paralytische Cadaverstellung, ohne erhebliche Deformation der verschiedenen Bestandtheile mit gleichmässiger Ausfällung bestimmter Antheile, wie beim natürlichen Tode (noch dünnere Giftlösungen).

Die unter No. 3 aufgestellte Form entspricht den oligodynamischen Erscheinungen v. Nägeli's, aber wir sind nach unseren Erfahrungen nicht mehr berechtigt, sie als etwas nicht dem Grade, sondern ihrer Natur nach von den unter den anderen Nummern aufgestellten Vergiftungszuständen Verschiedenes aufzufassen, sondern müssen sie als Folgen der Giftwirkung sehr geringer Dosen denjenigen, die durch grössere und noch kleinere Dosen hervorgebracht werden, anreihen. Die Uebergänge, welche zwischen diesen Formen vorkommen, zeigen deutlich, dass das Wesentliche die Formen trennende der Molekularzustand der Albuminate des Protoplasma ist, während die durch osmotische Differenzen hervorgebrachten Änderungen, so sehr sie die Bilder

im Einzelnen wechselvoll gestalten, doch für die Frage nach dem Wesen der Giftwirkung ausgeschaltet werden müssen.

Die oligodynamische Zellerscheinung, die wir wohl zweckmässiger von ihrem hervorstechendsten Merkmal als plastoschistischen Zustand bezeichnen können, hat keine andere Ursache, als die übrigen bis dahin als Giftwirkung anerkannten Zustände: das Sterben des Protoplasma. Letzteres ist in diesem Falle nicht durch so augenfällige Änderungen des Molekularzustandes gekennzeichnet wie in denjenigen Formen, die durch grössere Mengen der giftigen Substanz hervorgerufen werden und je nach der coagulirenden oder Quellung erzeugenden Wirkung des Giftes sich verschieden ausnehmen. Ganz frei von solchen Änderungen sind allerdings auch die oligodynamischen Erscheinungen nicht, die durch noch dünnerne Lösungen herbeigeführten Zustände erst (s. oben S. 311) lassen nichts Derartiges erkennen und stimmen mit den vorwiegenden Formen des natürlichen Todes überein.

Streng aus einander zu halten sind die unmittelbar mit der definitiven Aufhebung der Function (Plasmaströmung und vitaler Stoffwechsel) eintretenden Änderungen des Molekularzustandes und die erst nachträglich, wenn auch nach kurzem Intervall bemerkbaren Erscheinungen, die den ersten, den finalen, als cadaveröse gegenübergestellt werden können.

Kurz können wir uns fassen bezüglich der durch die Behandlung mit oligodynamischen Lösungen an den Bacteriaceen sowie an thierischen Protisten erlangten Resultate. Bei den verschiedenen Organismen waren nicht übereinstimmende, ganz vorwiegend aber Erscheinungen hervorgetreten, die der paralytischen Cadaverstellung an den Spirogyren entsprechen. Nur das ungeformte Protoplasma der Rhizopoden zeigte eine ausgeprägte Tendenz, die Kugelform einzunehmen, es muss aber dahingestellt bleiben, ob man hierin einen Ausdruck grösserer Reizbarkeit oder nur denjenigen des langsameren Sterbens sehen darf, entsprechend einer langsameren Einwirkung auf den im Vergleich mit den Flagellaten compacteren Körper der zu den Versuchen benutzten Amöben.

Nur selten wurde bei bestimmten Formen der Ciliaten (*Haematococcus*, *Paramaecium*) eine Lösung der Membran von dem protoplasmatischen Körper beobachtet, was nicht aus-

schliesst, dass auch an anderen verwandten Formen etwas derartiges vorkommt. Mit Anilinfarben wurde diese Erscheinung in früheren Versuchen (s. S. 305 Anm.) an Lieberkühnia und Holophrya oft beobachtet, nachdem kurz zuvor der immer langsamere werdende Geisselschlag ganz aufgehört hatte.

Eins haben aber alle bisher darauf untersuchten Lebewesen mit den Spirogyren und den verwandten Fadenalgen gemein, die grosse Empfindlichkeit ihres Protoplasmakörpers gegen äusserst geringe Menge metallischer Gifte, welche schnell einwirken und das Leben dauernd aufheben, sei es nun, dass sie selbst in das Eiweissmolekül des gesammten oder eines Theiles des Protoplasten eintrete, sei es, dass sie ohne eine Verbindung mit ihm einzugehen, dem Protoplasma functionswichtige Bestandtheile entziehen.

Dass gerade das Kupfer das wirksamste der untersuchten Metallgifte ist, erscheint um so bedeutsamer, als die Erfahrung gelehrt hat, was durch exacte Untersuchungen¹⁾ in neuerer Zeit bestätigt wurde, dass nicht unbeträchtliche Kupfermengen von Pflanzen ohne Schaden aufgenommen und ausgeschieden werden, wo sie auf kupferreichem Boden wachsen, sowie dass gerade das Kupfer, obwohl es niemals im Innern der lebenden Pflanzenzellen nachgewiesen werden konnte, dennoch bei Kartoffeln die vegetative Entfaltung in vielseitiger Weise günstig beeinflusst²⁾. Wie weit gewisse Pflanzen eine Toleranz für ein so gefährliches Protoplasmagift besitzen, wie das Kupfer eines ist, oder wie weit etwa eine Gewöhnung an dasselbe eintritt, wären Fragen, deren Beantwortung für die Physiologie der lebenden Substanz von grosser Bedeutung wäre. Dass hierbei das von den Organismen aufgenommene Metall, wenn es auch innerhalb der Protoplasten bis jetzt noch nicht nachgewiesen ist und zweifellos nicht in den Zellen gespeichert wird, niemals mit dem Protoplasma in Berührung kommen sollte, ist nicht wahrscheinlich.

¹⁾ Lehmann, Hygienische Studien über Kupfer. Der Kupfergehalt von Pflanzen und Thieren in kupferreichen Gegenden. Archiv für Hygiene. Bd. XXVII. 1896. S. 1 ff.

²⁾ B. Frank und F. Krüger, Ueber den Reiz, welchen die Behandlung mit Kupfer auf die Kartoffelpflanze hervorbringt. Berichte der Deutschen Bot. Gesellsch. XII. 1894. S. 8.